

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年2月1日 (01.02.2001)

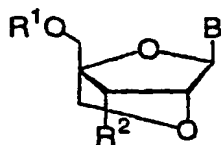
PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/07455 A1

- (51) 国際特許分類: C07H 19/167, 19/067 // A61K 31/7125, A61P 31/18 代ヶ丘2丁目2番18号 Nara (JP). 小比賀聡 (KOHIGA, Satoshi) [JP/JP]; 〒569-1022 大阪府高槻市日吉台4丁目2034 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/04902
- (22) 国際出願日: 2000年7月21日 (21.07.2000) (74) 代理人: 大野彰夫, 外(OHNO, Akio et al.); 〒140-8710 東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内 Tokyo (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): AU, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IN, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, TR, US, ZA.
- (30) 優先権データ: 特願平11/207170 1999年7月22日 (22.07.1999) JP (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三共株式会社 (SANKYO COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒103-8426 東京都中央区日本橋本町3丁目5番1号 Tokyo (JP). 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 今西 武 (IMANISHI, Takeshi) [JP/JP]; 〒631-0045 奈良県奈良市千
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL BICYCLONUCLEOSIDE ANALOGUES

(54) 発明の名称: 新規ビシクロヌクレオシド類縁体

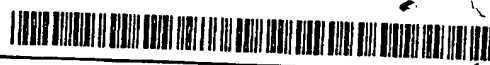


(1)

(57) Abstract: Novel bicyclonucleoside analogues having an anti-AIDS activity; and intermediates for the preparation of oligonucleotide analogues having an excellent antisense or antigene activity and being stable *in vivo*. Specifically, compounds represented by the structural formula (I) or pharmacologically acceptable salts thereof, wherein R¹ is hydrogen or a hydroxyl-protecting group; R² is azido, optionally protected amino, or the like; and B is a purin-9-yl or 2-oxo-1,2-dihydropyrimidin-1-yl group which is optionally substituted with a member selected from the group consisting of halogeno, C₁-C₆ alkyl, hydroxyl, mercapto, amino, and so on.

[続葉有]

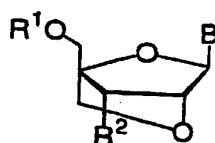
WO 01/07455 A1



(57) 要約:

抗エイズ活性を有する新規なビスクロヌクレオシド類縁体を見出すこと、及び、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定な、オリゴヌクレオチド類縁体を製造するための中間体を提供することを目的とする。

下記の構造式 (1) で示される化合物又はその薬理上許容される塩。



(1)

R^1 は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基の保護基を示し、
 R^2 は、アジド基、保護されていてもよいアミノ基等を示し、
 B は、下記 α 群から選択される置換基を有していてもよい
 プリン-9-イル又は2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基を示す。

(α 群)

ハロゲン原子、炭素数1乃至6個のアルキル基、水酸基、メルカプト基、アミノ基等。

明細書

新規ビシクロヌクレオシド類縁体

技術分野

本発明は、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定な非天然型のオリゴヌクレオチド類縁体を製造するための新規なビシクロヌクレオシド類縁体に関する。

また、本発明は、該ビシクロヌクレオシド構造を1又は2以上含有する新規なオリゴヌクレオチド類縁体に関する。

さらに、本発明は、抗エイズ活性を有する新規な修飾ビシクロヌクレオシド類縁体に関する。

背景技術

優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定なオリゴヌクレオチドは、有用な医薬として期待される。

しかしながら、天然型オリゴヌクレオチドは、血液中や細胞内に存在する各種ヌクレアーゼにより、速やかに分解されてしまうことが知られている。

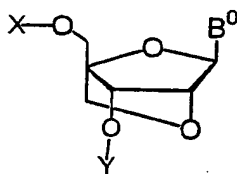
これらの欠点を克服すべく、種々の非天然型のオリゴヌクレオチド類縁体が製造され、それらを医薬として、開発する試みがなされている。例えば、オリゴヌクレオチドのホスホジエステル結合内のリン原子と結合する酸素原子を硫黄原子に置換したもの、該酸素原子をメチル基に置換したもの、該酸素原子をホウ素原子に置換したもの、オリゴヌクレオチドの糖部分や塩基部分を化学修飾したもの等が知られている。

また、より具体的には、ISIS社は、ヒトサイトメガロウイルス性網膜炎の治療薬として、チオエート型オリゴヌクレオチドであるISIS2922を

開発し、VitraveneTMとして米国で販売している。

しかしながら、上記の非天然型のオリゴヌクレオチド類縁体における、アンチセンス又はアンチジーン活性の強さ、すなわち、m-RNA又はDNAとの安定な相補鎖形成能や、各種ヌクレアーゼに対する安定性、生体内の各種蛋白質と非特異的に結合することによる副作用の発現等を考慮すると、さらに優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、生体内で安定で、かつ、副作用の発現の少ない非天然型のオリゴヌクレオチド類縁体が望まれる。

本願化合物と関連する化学構造、すなわち、下記のジオキサビシクロ[2,2,1]ヘプタン構造を有するものが、WO 98/39352号に記載されているが、該化合物は、リボースの3'位における置換基において本願化合物と異なる。また、該化合物が抗エイズ活性を有することは知られていない。



上記式中、 B° はピリミジン若しくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体であり、X及びYは同一又は異なって、水素、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシル基又はシリル基である。

本発明の課題は、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定な非天然型のオリゴヌクレオチド類縁体を製造するための新規なビシクロヌクレオシド類縁体を提供することにある。

また、本発明の課題は、該ビシクロヌクレオシド構造を1又は2以上含

有する新規なオリゴヌクレオチド類縁体を提供することにある。

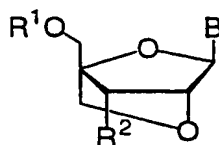
さらに、本発明の課題は、抗エイズ活性を有する新規なビスクロヌクレオシド類縁体を提供することにある。

本発明の発明者は、該課題を解決すべく、鋭意研究を続けた結果、2'-O, 4'-C-メチレンを有する新規なビスクロヌクレオシド類縁体が、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定な非天然型のオリゴヌクレオチド類縁体を製造するための重要中間体であることを見出し、また、該ビスクロヌクレオシド構造を1又は2以上含有する新規なオリゴヌクレオチド類縁体が、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定であることを見出し、さらに、該ビスクロヌクレオシド類縁体が、優れた抗エイズ活性を有することを見出し、本発明を完成した。

発明の開示

本発明の新規なビスクロヌクレオシド類縁体は、

1) 一般式(1)



(1)

[式中、

R¹は、同一又は異なって、水素原子、水酸基の核酸合成の保護基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基又は式-P(R^{4a})-R^{4b}(式中、R^{4a}及びR^{4b}は、同一又は異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメ

ルカプト基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、炭素数 1 乃至 7 個のシアノアルコキシ基又は炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたアミノ基を示す) で表される基を示し、

R^2 は、アジド基、アミノ基又は式 $NH-R^3$ (R^3 は、同一又は異なって、アミノ基の核酸合成の保護基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基又は式 $-P(R^{4a})R^{4b}$ (式中、 R^{4a} 及び R^{4b} は、同一又は異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、炭素数 1 乃至 7 個のシアノアルコキシ基又は炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたアミノ基を示す) で表される基を示す) で表される基を示し、

B は、下記 α 群から選択される任意の置換基を 1 以上有していてもよいプリン-9-イル又は 2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基を示す。]

で表される化合物又はその薬理上許容される塩である。

(α 群)

水酸基、

核酸合成の保護基で保護された水酸基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基、

メルカプト基、

核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、

アミノ基、

核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたアミノ基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基、及び、

ハロゲン原子。

本発明の化合物のうち、好適なものは、

2) R^1 が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、シリル基、1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基である、化合物、

3) R^1 が、水素原子、シリル基、1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基である、化合物、

4) R^1 が、水素原子、トリメチルシリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、ベンジル基、トリフェニルメチル基、4-メトキシベンジル基、4-メトキシフェニルジフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル基又は4, 4', 4''-トリメトキシトリフェニルメチル基である、化合物、

5) R^2 が、アジド基、アミノ基、又は、式 $NH-R^3$ 基（式中、 R^3 は、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基又は核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である）である、化合物、

6) R^2 が、アジド基、アミノ基、式 $NH-R^3$ 基（式中、 R^3 が、アセチル基、トリフルオロアセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、*p*-メトキシベンジル基、*tert*-ブチルジフェニルシリル基、式 $-P(OC_2H_4CN)(NCH(CH_3)_2)$ で表される基、式 $-P(OCH_3)(NCH(C$

H₃)₂)で表される基、ホスホニル基、又は、2-クロロフェニル若しくは4-クロロフェニルリン酸基である)である、化合物、

7) R²が、アジド基又はアミノ基である、化合物、

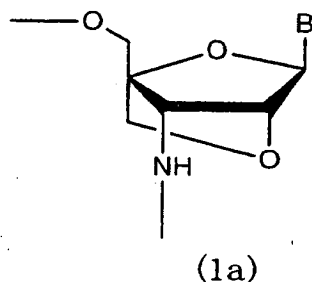
8) Bが、6-アミノプリン-9-イル(すなわち、アデニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル(すなわち、グアニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、メルカプト基が核酸合成の保護基で保護された6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(すなわち、シトシル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-

アミノ-2-オキソ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、メルカプト基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2, 4-ジヒドロキシピリミジン-1-イル（すなわち、ウラシル）、2, 4-ジヒドロキシ-5-メチルピリミジン-1-イル（すなわち、チミン）、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル又はアミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基である、化合物、

9) Bが、6-ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-ベンゾイルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトニル、ウラシル又はチミン基である、化合物、
である。

R¹を上記2) 又は4) から選択し、R²を上記5) 乃至7) から選択し、Bを上記8) 乃至9) から選択して得られる任意の組合せもまた好適であり、特に好適には、2)、5) 及び8) の組合せ、3)、6) 及び8) の組合せ及び4)、6) 及び9) の組合せである。

本発明の新規オリゴヌクレオチド類縁体は、
1) 一般式 (1 a)



[式中、

Bは、下記 α 群から選択される置換基を有していてもよいプリン-9-イル基又は2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基を示す。]で表わされる構造を1又は2以上含有するオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩である。但し、上記構造を2以上含有する場合には、当該構造間でBは同一又は異なる。

(α 群)

水酸基、

核酸合成の保護基で保護された水酸基、

炭素数1乃至6個のアルコキシ基、

メルカプト基、

核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、

炭素数1乃至6個のアルキルチオ基、

アミノ基、

核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、

炭素数1乃至6個のアルキル基で置換されたアミノ基、

炭素数1乃至6個のアルキル基、及び、

ハロゲン原子。

ここで、「オリゴヌクレオチド類縁体」とは、天然型のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシド単位が上記構造(1a)で1又は2以上置換された非天然型のものをいい、そのような類縁体においては、例えば、糖部分が修飾された糖誘導体、リン酸ジエステル結合部分がチオエート化されたチオエート誘導体、末端のリン酸部分がエステル化されたエステル体、プリン塩基上のアミノ基がアミド化されたアミド体を他のヌクレオシド又はヌクレオチド単位として含有することもできる。

本発明の新規なオリゴヌクレオチド類縁体のうち、好適なものは、
2) Bが、6-アミノプリン-9-イル基(すなわち、アデニル基)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル基、2, 6-ジアミノプリン-9-イル基、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル基、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル基、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル基、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル基、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル基、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル基、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル基(すなわち、グアニル基)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル基、アミノ基及び水酸基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル基、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル基、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル基、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル基、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル基、2, 6-ジクロロプリン-9-イル基、6-メルカプトプリン-9-イル基、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基(すなわち、シトシル基)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、アミノ基が核酸合成

の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基（すなわち、ウラシニル基）、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基（すなわち、チミニル基）、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基（すなわち、5-メチルシトシニル基）又はアミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基である、オリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩、

3) Bが、6-ベンゾイルアミノプリン-9-イル基、アデニニル基、2-イソブチリルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル基、グアニニル基、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、シトシニル基、2-オキソ-5-メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、5-メチルシトシニル基、ウラシニル基又はチミニル基である、オリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩である。

上記R¹の定義における「水酸基の核酸合成の保護基」は、核酸合成の際に安定に水酸基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ヒパロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、デカノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3, 7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、トリデカノイル、ヘキサデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13, 13-ジメチルテトラデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコ

サノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲノ低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシル基」；

ベンゾイル、 α -ナフトイル、 β -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲノアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」；

テトラヒドロピラン-2-イル、3-ブロモテトラヒドロピラン-2-イル、4-メトキシテトラヒドロピラン-4-イル、テトラヒドロチオピラン-2-イル、4-メトキシテトラヒドロチオピラン-4-イルのような「テトラヒドロピラニル又はテトラヒドロチオピラニル基」；テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロチオフラン-2-イルのような「テトラヒドロフラニル又はテトラヒドロチオフラニル基」；

トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジ-*t*-ブチルシリル、トリイソプロピルシリルのようなトリ低級アルキルシリル基、ジフェニルメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような1乃至2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基等の「シリル

基」；

メトキシメチル、1，1－ジメチル－1－メトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、イソプロポキシメチル、ブトキシメチル、t－ブトキシメチルのような「低級アルコキシメチル基」；

2－メトキシエトキシメチルのような「低級アルコキシ化低級アルコキシメチル基」；

2，2，2－トリクロロエトキシメチル、ビス（2－クロロエトキシ）メチルのような「ハロゲン低級アルコキシメチル」；

1－エトキシエチル、1－（イソプロポキシ）エチルのような「低級アルコキシ化エチル基」；

2，2，2－トリクロロエチルのような「ハロゲン化エチル基」；

ベンジル、 α －ナフチルメチル、 β －ナフチルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 α －ナフチルジフェニルメチル、9－アンスリルメチルのような「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」；

4－メチルベンジル、2，4，6－トリメチルベンジル、3，4，5－トリメチルベンジル、4－メトキシベンジル、4－メトキシフェニルジフェニルメチル、4，4'－ジメトキシトリフェニルメチル、4，4'，4"－トリメトキシトリフェニルメチル、2－ニトロベンジル、4－ニトロベンジル、4－クロロベンジル、4－ブromoベンジル、4－シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン又はシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」；

メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、t－ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；

2，2，2－トリクロロエトキシカルボニル、2－トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；

ビニルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；

ベンジルオキシカルボニル、4－メトキシベンジルオキシカルボニル、

3, 4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような「1乃至2個の低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラキルオキシカルボニル基」をあげることができ、

好適には、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、又は、シリル基であり、さらに好適には、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基又は tert-ブチルジフェニルシリル基である。

上記 R¹ 及び R³ の定義における「核酸合成の保護基で保護されたリン酸基」の核酸合成の保護基とは、核酸合成の際に安定にリン酸基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、n-ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、2-エチルブチルのような「低級アルキル基」；

2-シアノエチル、2-シアノー-1, 1-ジメチルエチルのような「シアノ化低級アルキル基」；

2-メチルジフェニルシリルエチル、2-トリメチルシリルエチル、2-トリフェニルシリルエチルのような「シリル基で置換されたエチル基」；
2, 2, 2-トリクロロエチル、2, 2, 2-トリブロモエチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル、2, 2, 2-トリクロロー-1, 1-ジメチルエチルのような「ハロゲン化低級アルキル基」；

エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル

ル、1-メチル-1-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、2-エチル-2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-メチル-2-ブテニル、1-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-エチル-2-ブテニル、3-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、1-エチル-3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、1-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、3-ペンテニル、1-メチル-3-ペンテニル、2-メチル-3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-メチル-4-ペンテニル、2-メチル-4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルのような「低級アルケニル基」；

シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、ノルボルニル、アダマンチルのような「シクロアルキル基」；

2-シアノブテニルのような「シアノ化低級アルケニル基」；

ベンジル、 α -ナフチルメチル、 β -ナフチルメチル、インデニルメチル、フェナンスレニルメチル、アントラセニルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、1-フェネチル、2-フェネチル、1-ナフチルエチル、2-ナフチルエチル、1-フェニルプロピル、2-フェニルプロピル、3-フェニルプロピル、1-ナフチルプロピル、2-ナフチルプロピル、3-ナフチルプロピル、1-フェニルブチル、2-フェニルブチル、3-フェニルブチル、4-フェニルブチル、1-ナフチルブチル、2-ナフチルブチル、3-ナフチルブチル、4-ナフチルブチル、1-フェニルペンチル、2-フェニルペンチル、3-フェニルペンチル、4-フェニルペンチル、5-フェニルペンチル、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、1-フェニルヘキシル、2-フェニルヘキシル、3-フェニルヘキシル、4-フェニルヘキシル、5-フェニルヘキシル、6-フェニルヘキシル、1-ナフチルヘキシル、2-ナフチルヘキシル、3-ナフチル

ヘキシル、4-ナフチルヘキシル、5-ナフチルヘキシル、6-ナフチルヘキシルのような「アラルキル基」；

4-クロロベンジル、2-(4-ニトロフェニル)エチル、o-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、2,4-ジニトロベンジル、4-クロロ-2-ニトロベンジルのような「ニトロ基、ハロゲン原子でアリール環が置換されたアラルキル基」；

フェニル、インデニル、ナフチル、フェナンスレニル、アントラセニルのような「アリール基」；

2-メチルフェニル、2,6-ジメチルフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、2,4-ジクロロフェニル、2,5-ジクロロフェニル、2-ブロモフェニル、4-ニトロフェニル、4-クロロ-2-ニトロフェニルのような「低級アルキル基、ハロゲン原子、ニトロ基で置換されたアリール基」をあげることができ、

好適には、「低級アルキル基」、「シアノ基で置換された低級アルキル基」、「アラルキル基」、「ニトロ基、ハロゲン原子でアリール環が置換されたアラルキル基」又は「低級アルキル基、ハロゲン原子、ニトロ基で置換されたアリール基」であり、さらに好適には、2-シアノエチル基、2,2,2-トリクロロエチル基、ベンジル基、2-クロロフェニル基又は4-クロロフェニル基である。

上記 α 群の定義における「炭素数1乃至6個のアルキル基」としては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシルのような炭素数1乃至6個の直鎖又は分枝鎖アルキル基をあげることができ、好適には、炭素数1乃至4個のアルキル基であり、さらに好適には、炭素数1又は2個のアルキル基であり、最も好適には、メチル基である。

上記 R^2 の定義における「アミノ基の核酸合成の保護基」とは、核酸合成の際に安定にアミノ基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、

例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、デカノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3, 7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、トリデカノイル、ヘキサデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13, 13-ジメチルテトラデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲン低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシル基」；

ベンゾイル、 α -ナフトイル、 β -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲンアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基； 2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」；

メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、t-ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；

2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；

ビニルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；

ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、3, 4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような「1乃至2個の低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル基」をあげることができ、好適には、「脂肪族アシル基」、「芳香族アシル基」又は「1乃至2個の低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル基」であり、さらに好適には、「脂肪族アシル基」又は「1乃至2個の低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル基」であり、特に好適には、トリフルオロアセチル基又はベンジルオキシカルボニル基である。

上記の「ホスホロアミダイト基」とは、式- $P(OR^{3a})(NR^{3b})$ で表される基（式中、 R^{3a} は炭素数1乃至6個のアルキル基又は炭素数1乃至7個のシアノアルキル基を示し、 R^{3b} は炭素数1乃至6個のアルキル基を示す）であり、好適には、式- $P(OC_2H_4CN)(NCH(CH_3)_2)$ で表される基又は式- $P(OCH_3)(NCH(CH_3)_2)$ で表される基である。

上記 α 群の定義における「ハロゲン原子」としては、弗素原子、塩素原子、臭素原子又は沃素原子をあげることができ、好適には、弗素原子又は塩素原子である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} 並びに α 群の定義における「炭素数1乃至6個のアルキル基」としては、例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*s*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシルのような炭素数1乃至6個の直鎖又は分枝鎖アルキル基を挙げ

ることができ、好適には、メチル基又はエチル基である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} 並びに α 群の定義における「核酸合成の保護基で保護された水酸基」の核酸合成の保護基としては、前記 R^1 の定義における「水酸基の核酸合成の保護基」で例示した基と同様の基をあげることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} 並びに α 群の定義における「核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基」の核酸合成の保護基としては、例えば、前記 R^1 の定義における「水酸基の核酸合成の保護基」としてあげたものの他、メチルチオ、エチルチオ、tert-ブチルチオのようなアルキルチオ基、ベンジルチオのようなアリールチオ基等の「ジスルフィドを形成する基」をあげることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} 並びに α 群の定義における「核酸合成の保護基で保護されたアミノ基」の核酸合成の保護基としては、前記 R^2 の定義における「アミノ基の核酸合成の保護基」で例示した基と同様の基を挙げることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、更に好適には、ベンゾイル基である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} 並びに α 群の定義における「炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基」としては、例えば、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、イソブトキシ、s-ブトキシ、tert-ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシのような炭素数 1 乃至 6 個の直鎖若しくは分枝鎖アルコキシ基を挙げることができ、好適には、メトキシ又はエトキシ基である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} 並びに α 群の定義における「炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基」としては、例えば、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソプロピルチオ、ブチルチオ、イソブチルチオ、*s*-ブチルチオ、*tert*-ブチルチオ、ペンチルチオ、ヘキシルチオ基を挙げることができ、好適には、メチルチオ又はエチルチオ基である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} 並びに α 群の定義における「炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたアルキルアミノ基」としては、例えば、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、ブチルアミノ、イソブチルアミノ、*s*-ブチルアミノ、*tert*-ブチルアミノ、ペンチルアミノ、ヘキシルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、ジイソプロピルアミノ、ジブチルアミノ、ジイソブチルアミノ、ジ(*s*-ブチル)アミノ、ジ(*tert*-ブチル)アミノ、ジペンチルアミノ、ジヘキシルアミノ基を挙げることができ、好適には、メチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ又はジエチルアミノ基である。

上記 R^{4a} 及び R^{4b} の定義における「炭素数 1 乃至 7 個のシアノアルコキシ基」としては、例えば、シアノメトキシ、シアノエトキシ、シアノプロピルオキシ、シアノブチルオキシ、シアノペンチルオキシ、シアノヘキシルオキシ基等を挙げることができ、好適には、2-シアノエトキシ基である。

上記「その薬理上許容される塩」とは、本発明のヌクレオシド類縁体(1)並びに上記構造(1a)を含有するオリゴヌクレオチド類縁体は、塩にすることができるので、その塩をいい、そのような塩としては、好適には、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩等の金属塩；アンモニウム塩のような無機塩、*t*-オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレ

ンジアミン塩、N-メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、N-ベンジルーフェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩のような有機塩等のアミン塩；弗化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、沃化水素酸塩のようなハロゲン化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、燐酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩のようなアリールスルホン酸塩、酢酸塩、りんご酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、蔞酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及び、グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げることができ、ヌクレオシド構造(1a)を含有するオリゴヌクレオチド類縁体の場合には、ナトリウム塩、カリウム塩及びトリエチルアミン塩が好適であり、ヌクレオシド類縁体(1)の場合には、フリー体が好適である。

また、本発明のヌクレオシド類縁体(1)並びに上記構造(1a)を含有するオリゴヌクレオチド類縁体は、大気中に放置しておくことにより、水分を吸収し、吸着水が付いたり、水和物となる場合があり、そのような塩も本発明に包含される。

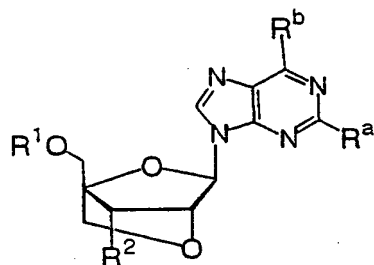
さらに、本発明のヌクレオシド類縁体(1)並びに上記構造(1a)を含有するオリゴヌクレオチド類縁体は、他のある種の溶媒を吸収し、溶媒和物となる場合があるが、そのような塩も本発明に包含される。

本発明の化合物(1)の具体例としては、例えば、下記表1及び表2に示すような化合物を挙げることができる。

表 1 及び表 2 中、

「B n」は、ベンジル基を、「B z」は、ベンゾイル基を、「M e」は、メチル基を、「P M B n」は、p-メトキシベンジル基を、「M M T r」は、4-メトキシトリフェニルメチル基を、「D M T r」は、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル基を、「T M T r」は、4, 4', 4"-トリメトキシトリフェニルメチル基を、「T M S」は、トリメチルシリル基を、「T B D M S」は、tert-ブチルジメチルシリル基を、「T B D P S」は、tert-ブチルジフェニルシリル基を、それぞれ示す。

(表 1)



(1')

例示化合物

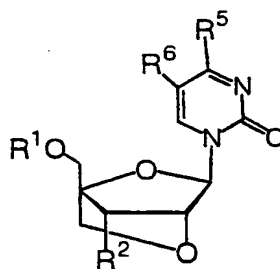
番 号	R ¹	R ²	R ^a	R ^b
1-1	H	NH ₂	H	H
1-2	H	NH ₂	H	OH
1-3	H	NH ₂	H	SH
1-4	H	NH ₂	H	NH ₂
1-5	H	NH ₂	H	OMe
1-6	H	NH ₂	F	H
1-7	H	NH ₂	F	NH ₂
1-8	H	NH ₂	Cl	H
1-9	H	NH ₂	Cl	NH ₂
1-10	H	NH ₂	Cl	Cl
1-11	H	NH ₂	Br	H
1-12	H	NH ₂	Br	NH ₂
1-13	H	NH ₂	OH	H
1-14	H	NH ₂	OH	OH
1-15	H	NH ₂	OH	NH ₂
1-16	H	NH ₂	OMe	OMe
1-17	H	NH ₂	OMe	NH ₂
1-18	H	NH ₂	NH ₂	H

1-19	H	NH ₂	NH ₂	F
1-20	H	NH ₂	NH ₂	Cl
1-21	H	NH ₂	NH ₂	Br
1-22	H	NH ₂	NH ₂	OH
1-23	H	NH ₂	NH ₂	NH ₂
1-24	H	NH ₂	NH ₂	OMe
1-25	H	N ₃	H	H
1-26	H	N ₃	H	OH
1-27	H	N ₃	H	SH
1-28	H	N ₃	H	NH ₂
1-29	H	N ₃	H	OMe
1-30	H	N ₃	F	H
1-31	H	N ₃	F	NH ₂
1-32	H	N ₃	Cl	H
1-33	H	N ₃	Cl	NH ₂
1-34	H	N ₃	Cl	Cl
1-35	H	N ₃	Br	H
1-36	H	N ₃	Br	NH ₂
1-37	H	N ₃	OH	H
1-38	H	N ₃	OH	OH
1-39	H	N ₃	OH	NH ₂
1-40	H	N ₃	OMe	OMe
1-41	H	N ₃	OMe	NH ₂
1-42	H	N ₃	NH ₂	H
1-43	H	N ₃	NH ₂	F
1-44	H	N ₃	NH ₂	Cl
1-45	H	N ₃	NH ₂	Br
1-46	H	N ₃	NH ₂	OH
1-47	H	N ₃	NH ₂	NH ₂

1-48	H	N ₃	NH ₂	OMe
1-49	H	N ₃	H	NHBz
1-50	H	NH ₂	H	NHBz
1-51	H	N ₃	Cl	NHBz
1-52	H	N ₃	OH	NHBz
1-53	H	N ₃	OMe	NHBz
1-54	H	N ₃	NHBz	H
1-55	H	N ₃	NHBz	Cl
1-56	H	N ₃	NHBz	OH
1-57	H	NH ₂	NHBz	OH
1-58	H	N ₃	NHBz	NHBz
1-59	H	N ₃	NHBz	OMe
1-60	Bn	N ₃	H	NHBz
1-61	Bn	N ₃	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-62	PMBn	N ₃	H	NHBz
1-63	PMBn	N ₃	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-64	MMTr	N ₃	H	NHBz
1-65	MMTr	N ₃	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-66	DMTr	N ₃	H	NHBz
1-67	DMTr	N ₃	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-68	TMTr	N ₃	H	NHBz
1-69	TMTr	N ₃	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-70	TMS	N ₃	H	NHBz
1-71	TMS	N ₃	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-72	TBDMS	N ₃	H	NHBz
1-73	TBDMS	N ₃	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-74	TBDPS	N ₃	H	NHBz
1-75	TBDPS	N ₃	NHBz	OH
1-76	Bn	NH ₂	H	NHBz

1-77	Bn	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-78	PMBn	NH ₂	H	NHBz
1-79	PMBn	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-80	MMTr	NH ₂	H	NHBz
1-81	MMTr	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-82	DMTr	NH ₂	H	NHBz
1-83	DMTr	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-84	TMTr	NH ₂	H	NHBz
1-85	TMTr	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-86	TMS	NH ₂	H	NHBz
1-87	TMS	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-88	TBDMS	NH ₂	H	NHBz
1-89	TBDMS	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH
1-90	TBDPS	NH ₂	H	NHBz
1-91	TBDPS	NH ₂	NHCOCH(CH ₃) ₂	OH

(表 2)



(1'')

例示化合物

番 号	R ¹	R ²	R ⁵	R ⁶
2-1	H	NH ₂	H	H

2-2	H	NH ₂	Cl	H
2-3	H	NH ₂	OH	H
2-4	H	NH ₂	OH	Me
2-5	H	NH ₂	SH	H
2-6	H	NH ₂	NH ₂	H
2-7	H	NH ₂	NH ₂	F
2-8	H	NH ₂	NH ₂	Cl
2-9	H	NH ₂	NH ₂	Me
2-10	H	NH ₂	OMe	H
2-11	H	N ₃	H	H
2-12	H	N ₃	Cl	H
2-13	H	N ₃	OH	H
2-14	H	N ₃	OH	Me
2-15	H	N ₃	SH	H
2-16	H	N ₃	NH ₂	H
2-17	H	N ₃	NH ₂	F
2-18	H	N ₃	NH ₂	Cl
2-19	H	N ₃	NH ₂	Me
2-20	H	N ₃	OMe	H
2-21	H	N ₃	NHBz	H
2-22	H	NH ₂	NHBz	H
2-23	H	N ₃	NHBz	F
2-24	H	N ₃	NHBz	Cl
2-25	H	N ₃	NHBz	Me
2-26	Bn	N ₃	OH	H
2-27	Bn	N ₃	OH	Me
2-28	Bn	N ₃	NHBz	H
2-29	PMBn	N ₃	OH	H
2-30	PMBn	N ₃	OH	Me

2-31	PMBn	N ₃	NHBz	H
2-32	MMTr	N ₃	OH	H
2-33	MMTr	N ₃	OH	Me
2-34	MMTr	N ₃	NHBz	H
2-35	DMTr	N ₃	OH	H
2-36	DMTr	N ₃	OH	Me
2-37	DMTr	N ₃	NHBz	H
2-38	TMTr	N ₃	OH	H
2-39	TMTr	N ₃	OH	Me
2-40	TMTr	N ₃	NHBz	H
2-41	TMS	N ₃	OH	H
2-42	TMS	N ₃	OH	Me
2-43	TMS	N ₃	NHBz	H
2-44	TBDMS	N ₃	OH	H
2-45	TBDMS	N ₃	OH	Me
2-46	TBDMS	N ₃	NHBz	H
2-47	TBDPS	N ₃	OH	H
2-48	TBDPS	N ₃	OH	Me
2-49	TBDPS	N ₃	NHBz	H
2-50	Bn	NH ₂	OH	H
2-51	Bn	NH ₂	OH	Me
2-52	Bn	NH ₂	NHBz	H
2-53	PMBn	NH ₂	OH	H
2-54	PMBn	NH ₂	OH	Me
2-55	PMBn	NH ₂	NHBz	H
2-56	MMTr	NH ₂	OH	H
2-57	MMTr	NH ₂	OH	Me
2-58	MMTr	NH ₂	NHBz	H
2-59	DMTr	NH ₂	OH	H

2-60	DMTr	NH ₂	OH	Me
2-61	DMTr	NH ₂	NHBz	H
2-62	TMTr	NH ₂	OH	H
2-63	TMTr	NH ₂	OH	Me
2-64	TMTr	NH ₂	NHBz	H
2-65	TMS	NH ₂	OH	H
2-66	TMS	NH ₂	OH	Me
2-67	TMS	NH ₂	NHBz	H
2-68	TBDMS	NH ₂	OH	H
2-69	TBDMS	NH ₂	OH	Me
2-70	TBDMS	NH ₂	NHBz	H
2-71	TBDPS	NH ₂	OH	H
2-72	TBDPS	NH ₂	OH	Me
2-73	TBDPS	NH ₂	NHBz	H

上記表中、好ましい化合物としては、化合物番号 1-3、1-4、1-7、1-9、1-10、1-16、1-17、1-19、1-20、1-21、1-22、1-23、1-27、1-28、1-31、1-33、1-34、1-40、1-41、1-43、1-44、1-45、1-46、1-47、1-49、1-50、1-56、1-57、1-82、1-83、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、2-13、2-14、2-15、2-16、2-17、2-18、2-19、2-20、2-21、2-22、2-48、2-59、2-60、及び 2-61 の化合物が挙げられ、

更に好ましい化合物としては、化合物番号 1-4、1-22、1-28、1-46、1-49、1-50、1-56、1-57、1-82、1-83、2-3、2-4、2-6、2-13、2-14、2-16、2-21、2-22、2-48、2-59、2-60、及び 2-61 の化合物が挙げられ、

最も好ましい化合物としては、

化合物番号 2-4 : 3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、

化合物番号 2-14 : 3'-アジド-3'-デオキシ-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、

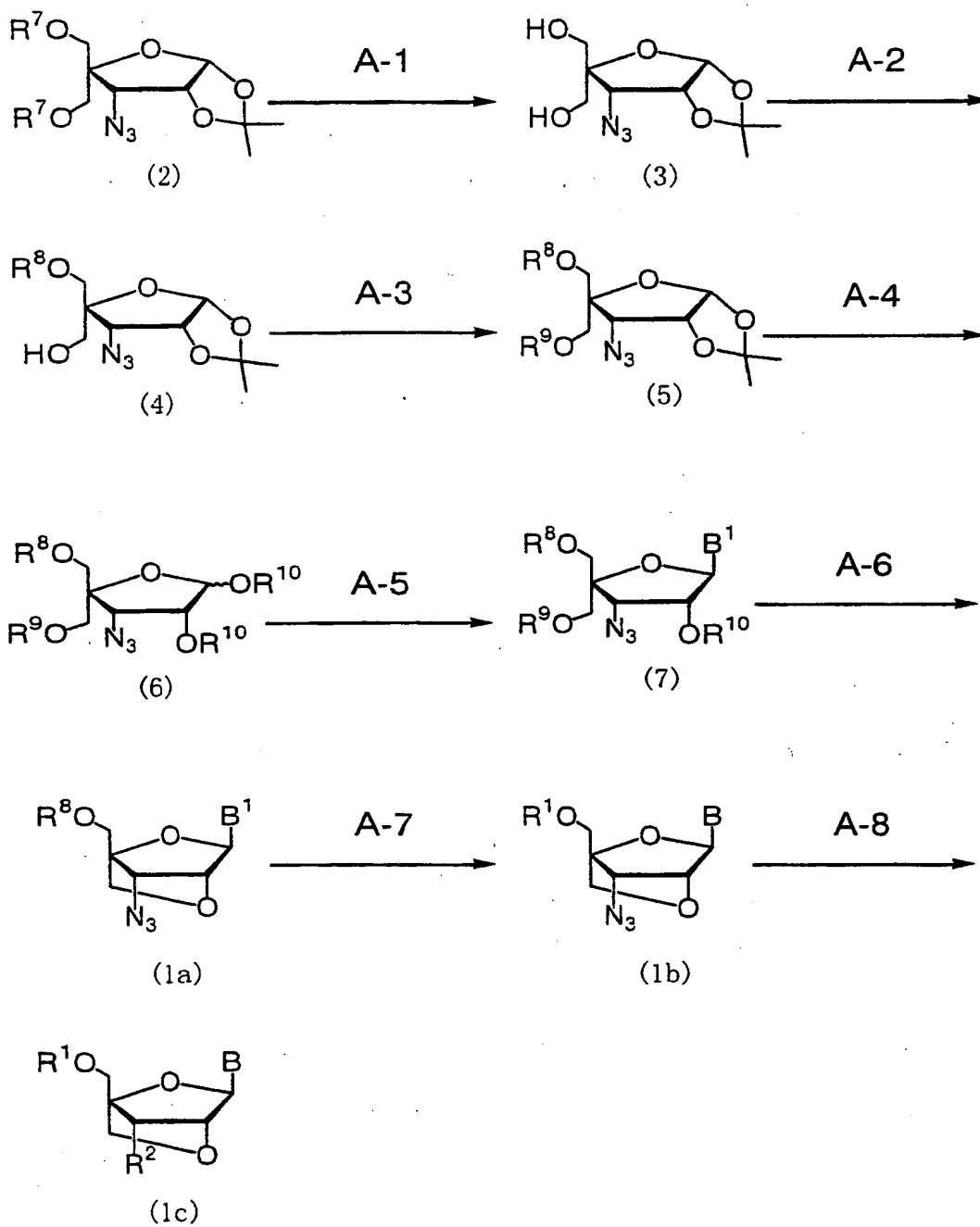
化合物番号 2-36 : 3'-アジド-3'-デオキシ-5'-O-(4, 4'-ジメトキシトリチル)-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、

化合物番号 2-48 : 3'-アジド-5'-O-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、及び、

化合物番号 2-60 : 3'-アミノ-3'-デオキシ-5'-O-(4, 4'-ジメトキシトリチル)-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン

があげられる。

本発明の化合物(1)は、以下に記載するA法により、製造することができる。



上記工程表中、 R^1 、 R^2 及びBは、前述と同意義である。

R^7 は、水酸基の保護基を示し、好適には、ベンゾイル、 α -ナフトイル、 β -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2,4,6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」であり、更に好適には、ベンゾイル基である。

R^8 は、水酸基の保護基を示し、好適には、トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジ-*t*-ブチルシリル、トリイソプロピルシリルのようなトリ低級アルキルシリル基、ジフェニルメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような1乃至2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基等の「シリル基」；

ベンジル、 α -ナフチルメチル、 β -ナフチルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 α -ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチルのような「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」；

4-メチルベンジル、2,4,6-トリメチルベンジル、3,4,5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4,4'-ジメトキシトリフェニルメチル、4,4',4"-トリメトキシトリフェニルメチル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、4-クロロベンジル、4-ブロモベンジル、4-シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」であり、更に好適には、トリメチルシリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、ベンジル基、トリフェニルメチル基、4-メトキシベンジル基、4-メトキシフェニルジフェニルメチル基、4,4'-ジメトキシトリフェニルメチル基又は4,4',4"-トリメトキシトリフェニルメチル基である。

R⁹は、脱離基を示し、好適には、メタンスルホニル、エタンスルホニルのような低級アルキルスルホニル基、トリフルオロメタンスルホニルのような、ハロゲン置換低級アルキルスルホニル基、p-トルエンスルホニルのようなアリールスルホニル基であり、更に好適には、メタンスルホニル又はp-トルエンスルホニル基である。

R¹⁰は、水酸基の保護基を示し、好適には、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、デカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲノ低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシル基」；

ベンゾイル、 α -ナフトイル、 β -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲノアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」であり、更に好適には、「脂肪族アシル基」であり、特に好適には、アセチル基である。

B¹は、下記 α 1群から選択される任意の置換基を1以上有していてもよいプリン-9-イル又は2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基を示す。

(α 1群)

水酸基、
核酸合成の保護基で保護された水酸基、
炭素数1乃至6個のアルコキシ基、
メルカプト基、
核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、
炭素数1乃至6個のアルキルチオ基、
核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、
炭素数1乃至6個のアルキル基で置換されたアミノ基、
炭素数1乃至6個のアルキル基、及び、
ハロゲン原子。

A法は、化合物(2)を出発原料にして、置換基Bを導入してから環化を行なって、目的化合物(1a)、(1b)及び(1c)を得る方法である。

ここで、原料化合物(2)は、市販のジアセトン-D-グルコースを出発原料にして、文献(O. T. Schmidt, *Methods in Carbohydr. Chem.*, 4, 318 (1964); J. S. Brimacombe and O. A. Ching, *Carbohydr. Res.*, 8, 82 (1968); T. F. Tam and B. Fraser-Reid, *Can. J. Chem.*, 57, 2818 (1979); S. A. Suzhkov, *Nucleosides & Nucleotides*, 13, 2283 (1994))の方法に準じて製造することができる。

以下A法の各工程について、詳細に説明する。

<A法>

(A-1 工程)

本工程は、不活性溶剤中、塩基の存在下、原料化合物(2)の一級水酸基の保護基を脱保護して、化合物(3)を製造する工程である。

使用される溶剤としては、通常の加水分解反応に使用されるものであれば特に限定はなく、例えば、水；メタノール、エタノール、*n*-プロパノールのようなアルコール類、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類等の有機溶媒又は水と上記有機溶媒との混合溶媒が用いられ、好適には、アルコール類である。

使用される塩基としては、化合物の他の部分に影響を与えないものであれば特に限定はないが、好適には、ナトリウムメトキシドのような金属アルコキシド類；炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸リチウムのようなアルカリ金属炭酸塩；水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化バリウムのようなアルカリ金属水酸化物又はアンモニア水、濃アンモニア-メタノールのようなアンモニア類が用いられ、好適には、アルカリ金属炭酸塩である。

反応温度及び反応時間は、出発物質、溶媒及び使用される塩基等により異なり特に限定はないが、副反応を抑制するために、通常は0℃乃至150℃で、1乃至10時間実施される。

反応終了後、本反応の目的化合物(3)は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

(A-2 工程)

本工程は、不活性溶剤中、塩基の存在下、A-1工程で得られる化合物(3)に水酸基の保護化剤を反応させて、化合物(4)を製造する工程で

ある。

使用される溶剤としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解するものであれば特に限定はないが、例えば、ヘキサン、ヘプタンのような脂肪族炭化水素類；ベンゼン、トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；蟻酸エチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル、炭酸ジエチルのようなエステル類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテルのようなエーテル類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類を挙げることができるが、好適には、メチレンクロリドである。

使用される塩基としては、通常の反応において塩基として使用されるものであれば、特に限定はないが、例えば、N-メチルモルホリン、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N-メチルピペリジン、ピリジン、4-ピロリジノピリジン、ピコリン、4-(N，N-ジメチルアミノ)ピリジン、2，6-ジ(tert-ブチル)-4-メチルピリジン、キノリン、N，N-ジメチルアニリン、N，N-ジエチルアニリンのような有機塩基類を挙げることができるが、好適には、トリエチルアミンである。使用される保護化剤としては、例えば、tert-ブチルジメチルシリルクロリド、トリメチルシリルクロリド、トリエチルシリルクロリド、トリエチルシリルブロミド、トリイソプロピルシリルクロリド、ジメチルイソプロピルシリルクロリド、ジエチルイソプロピルシリルクロリド、tert-ブチルジフェニルシリルクロリド、ジフェニルメチルシリルクロリド、トリフェニルシリルクロリドのようなシリルハライド類、4-メトキシトリフェニルメチルクロリド、4,4'-ジメトキシトリフェニルメチルクロリド、4,4',4''-トリメトキシトリフェ

ニルメチルクロリドのようなトリチルハライド類、ベンジルクロリド、ベンジルブロミド、p-メトキシベンジルブロミドのようなアラルキルハライド類を挙げることができ、好適には、t-ブチルジフェニルシリルクロリドである。

反応温度は、通常、 -20°C 乃至使用する溶媒の還流温度で行なわれるが、好適には、 0°C 乃至使用する溶媒の還流温度である。

反応時間は、主に反応温度、原料化合物、使用される塩基又は使用される溶媒の種類によって異なるが、通常、10分間乃至3日間であり、好適には、1時間乃至24時間である。

反応終了後、本反応の目的化合物(4)は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、特に、望ましくない水酸基に R^8 が導入された化合物が生じた場合には、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

(A-3工程)

本工程は、不活性溶剤中、塩基触媒の存在下、A-2工程で得られる化合物(4)に脱離基導入試薬を反応させて、化合物(5)を製造する工程である。

使用される溶剤としては、例えば、ヘキサン、ヘプタン、リグロイン、石油エーテルのような脂肪族炭化水素類；ベンゼン、トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；蟻酸エチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル、炭酸ジエチルのようなエステル類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテルのようなエーテル類；アセトン、メチルエ

チルケトン、メチルイソブチルケトン、イソホロン、シクロヘキサノンのようなケトン類；ニトロエタン、ニトロベンゼンのようなニトロ化合物類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類；スルホランのようなスルホキシド類；ピリジン類を挙げることができるが、好適には、メチレンクロリドである。

使用される塩基触媒としては、好適には、トリエチルアミン、ピリジン、ジメチルアミノピリジンのような塩基である。

使用される脱離基導入試薬としては、例えば、メタンスルホニルクロリド、エタンスルホニルブロミドのようなアルキルスルホニルハライド類；p-トルエンスルホニルクロリドのようなアリールスルホニルハライド類を挙げることができ、好適には、メタンスルホニルクロリド及びp-トルエンスルホニルクロリドである。

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、脱離基導入試薬、塩基触媒により異なるが、通常、0℃乃至50℃であり、好適には、10℃乃至40℃である。

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、脱離基導入試薬、塩基触媒、反応温度により異なるが、通常、10分乃至24時間であり、好適には、1乃至15時間である。

反応終了後、本反応の目的化合物（5）は、常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

(A-4 工程)

本工程は、溶剤中、酸触媒の存在下、A-3 工程で得られる化合物 (5) に酸無水物を反応させて、化合物 (6) を製造する工程である。

使用される溶剤としては、例えば、ジエチルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフランのようなエーテル類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類；酢酸のような有機酸等を挙げることができるが、好適には、酢酸である。

使用される酸触媒としては、例えば、塩酸、硫酸、硝酸等の無機酸をあげることができるが、好適には、硫酸（特に、濃硫酸）である。

使用される酸無水物としては、例えば、無水酢酸、無水プロピオン酸等の低級脂肪族カルボン酸の無水物を挙げることができるが、好適には、無水酢酸である。

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒、酸無水物により異なるが、通常、0℃乃至50℃であり、好適には、10乃至40℃である。

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒、酸無水物、反応温度により異なるが、通常、10分乃至12時間であり、好適には、30分乃至6時間である。

反応終了後、本反応の目的化合物 (6) は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

(A-5 工程)

本工程は、不活性溶剤中、酸触媒の存在下、A-4 工程で得られる化合

物(6)に、文献(H. Vorbrueggen, K. Krolikiewicz and B. Bennua, Chem. Ber., 114, 1234-1255 (1981))に従って調製した、所望の置換基を有していてもよいプリン又はピリミジンに対応するトリメチルシリル化体を反応させて、化合物(7)を製造する工程である。

使用される溶剤としては、ベンゼン、トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類；硫化炭素等を挙げることができるが、好適には、1, 2-ジクロロエタンである。

使用される酸触媒としては、例えば、 AlCl_3 、 SnCl_4 、 TiCl_4 、 ZnCl_2 、 BF_3 、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリルのようなルイス酸触媒等をあげることができ、好適には、四塩化スズ(SnCl_4)である。

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒により異なるが、通常、0乃至100℃であり、好適には、30℃乃至80℃である。

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒、反応温度により異なるが、通常、1時間乃至3日間であり、好適には、1時間乃至2日間である。

反応終了後、本反応の目的化合物(7)は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、水と酢酸エチル若しくは塩化メチレンのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

(A-6工程)

本工程は、不活性溶剤中、塩基触媒の存在下、A-5工程で得られる化合物(7)を環化して、化合物(1a)を製造する工程である。

使用される溶剤としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解するものであれば特に限定はないが、好適には、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、n-ブタノール、イソブタノール、t-ブタノール、イソアミルアルコール、ジエチレングリコール、グリセリン、オクタノール、シクロヘキサノール、メチルセロソルブのようなアルコール類を挙げることができるが、更に好適には、メタノールである。

使用される塩基触媒としては、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムのようなアルカリ金属水酸化物；炭酸ナトリウム、炭酸カリウムのようなアルカリ金属炭酸塩；ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシドのようなアルカリ金属アルコキシド；アンモニア水等をあげることができ、好適には、アルカリ金属炭酸塩であり、更に好適には炭酸カリウムである。

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、塩基触媒により異なるが、通常、0℃乃至50℃であり、好適には、10℃乃至30℃である。

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、塩基触媒、反応温度により異なるが、通常、1時間乃至3日間であり、好適には、3時間乃至2日間である。

反応終了後、本反応の目的化合物(1a)は、常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

(A-7工程)

本工程は、不活性溶剤中、A-6工程で得られる化合物(1a)に脱保

護試薬を反応させて、化合物(1b)を製造する工程である。但し、脱保護が不要な場合は、本工程を行わないで次の工程に進むこともできる。

脱保護の方法は、保護基の種類によって異なるが、他の副反応を生じない方法であれば、特に限定はなく、例えば、"Protective Groups in Organic Synthesis" (Theodora W. Greene 著、1981年、A Wiley-Interscience Publication発行)に記載の方法によって、行うことができる。

また、異なる種類の保護基が複数個存在している場合は、これらの方法を適宜組み合わせて、順次脱保護を行なうことができる。

特に、保護基が、(1)「脂肪族アシル基又は芳香族アシル基」、(2)「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」、(3)「シリル基」の場合には、以下の方法により行うことができる。

(1) 脂肪族アシル基及び芳香族アシル基の場合は、通常、不活性溶剤中、塩基を反応して行う。

使用される溶剤としては、通常の加水分解反応に使用されるものであれば特に限定はなく、例えば、水；メタノール、エタノール、n-プロパノールのようなアルコール類、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類等の有機溶媒又は水と上記有機溶媒との混合溶媒が用いられ、好適には、アルコール類である。

使用される塩基としては、化合物の他の部分に影響を与えないものであれば特に限定はないが、好適には、ナトリウムメトキシドのような金属アルコキシド類；炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸リチウムのようなアルカリ金属炭酸塩；水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化バリウムのようなアルカリ金属水酸化物又はアンモニア水、濃アンモニア-メタノールのようなアンモニア類が用いられ、好適には、アルカリ金属炭酸塩である。

反応温度及び反応時間は、出発物質、溶媒及び使用される塩基等により異なり特に限定はないが、副反応を抑制するために、通常は0℃乃至15

0℃で、1乃至10時間実施される。

反応終了後、本反応の目的化合物（1b）は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は必要ならば常法、例えば、再結晶またはシリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

（2）保護基が「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」の場合には、不活性溶剤中、還元剤を用いて行う。

使用される溶剤としては、好適には、メタノール、エタノール、イソプロパノールのようなアルコール類；ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類；トルエン、ベンゼン、キシレンのような芳香族炭化水素類；ヘキサン、シクロヘキサンのような脂肪族炭化水素類；酢酸エチル、酢酸プロピルのようなエステル類；酢酸のような有機酸類又はこれらの有機溶媒と水との混合溶媒を挙げることができる。

使用される還元剤としては、通常、接触還元反応に使用されるものであれば特に限定はないが、好適には、パラジウム炭素、ラネーニッケル、酸化白金、白金黒、ロジウム-酸化アルミニウム、トリフェニルホスフィン-塩化ロジウム、パラジウム-硫酸バリウムを挙げることができる。

圧力は、特に限定はないが、通常1乃至10気圧で行なわれる。

反応温度は、0℃乃至60℃であり、好適には、20乃至40℃である。

。

反応時間は、10分乃至24時間であり、好適には、1乃至3時間である。

反応終了後、本反応の目的化合物（1b）は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物から、還元剤を除去し、水と酢酸エ

チルのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

「3個のアリール基で置換されたメチル基」、すなわち、トリチル基の場合は酸を用いて行うこともできる。

その場合に、使用する溶剤としては、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノールのようなアルコール類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類；酢酸のような有機酸類を挙げることができ、好適には、有機酸（特に、酢酸）又はアルコール類（特に、tert-ブタノール）である。

使用する酸としては、好適には、酢酸又はトリフルオロ酢酸である。

反応温度は、0℃乃至60℃であり、好適には、20乃至40℃である。

。

反応時間は、10分乃至24時間であり、好適には、1乃至3時間である。

反応終了後、本反応の目的化合物（1b）は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を中和し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

(3) 保護基が、「シリル基」の場合は、通常、弗化テトラブチルアンモニウム、弗化水素酸、弗化水素酸-ピリジン、弗化カリウムのような弗素アニオンを生成する化合物で処理するか、又は、酢酸、メタンスルホン酸、パラトルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸、トリフルオロメタンスルホン酸のような有機酸又は塩酸のような無機酸で処理することにより除去できる。

尚、弗素アニオンにより除去する場合に、蟻酸、酢酸、プロピオン酸のような有機酸を加えることによって、反応が促進することがある。

使用される溶剤としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解するものであれば特に限定はないが、好適には、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテルのようなエーテル類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；水；酢酸のような有機酸及びこれらの混合溶媒を挙げることができる。

反応温度は、0℃乃至100℃であり、好適には、20乃至70℃である。

反応時間は、5分乃至48時間であり、好適には、1乃至24時間である。

反応終了後、本反応の目的化合物(1b)は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、溶剤を留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製することで得られる。

(A-8工程)

本工程は、不活性溶剤中、水素及び触媒の存在下、A-7工程で得られる化合物(1b)のアジド基をアミノ基に還元して、また、所望により、そのアミノ基を保護して、化合物(1c)を製造する工程である。

使用される溶剤としては、本反応に関与しないものであれば特に限定はないが、好適には、メタノール、エタノール、イソプロパノールのようなアルコール類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサンのよ

うなエーテル類、トルエン、ベンゼン、キシレンのような芳香族炭化水素類、ヘキサン、シクロヘキサンのような脂肪族炭化水素類、酢酸エチル、酢酸プロピルのようなエステル類、ホルムアミド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、ヘキサメチルホスホトリアミドのようなアミド類、蟻酸、酢酸のような脂肪酸類、水、又はこれらの混合溶剤が用いられる。

使用される触媒としては、通常、接触還元反応に使用されるものであれば、特に限定はないが、好適には、パラジウム炭素、パラジウム黒、ラネーニッケル、酸化白金、白金黒、ロジウム-酸化アルミニウム、トリフェニルホスフィン-塩化ロジウム、パラジウム-硫酸バリウムが用いられる。

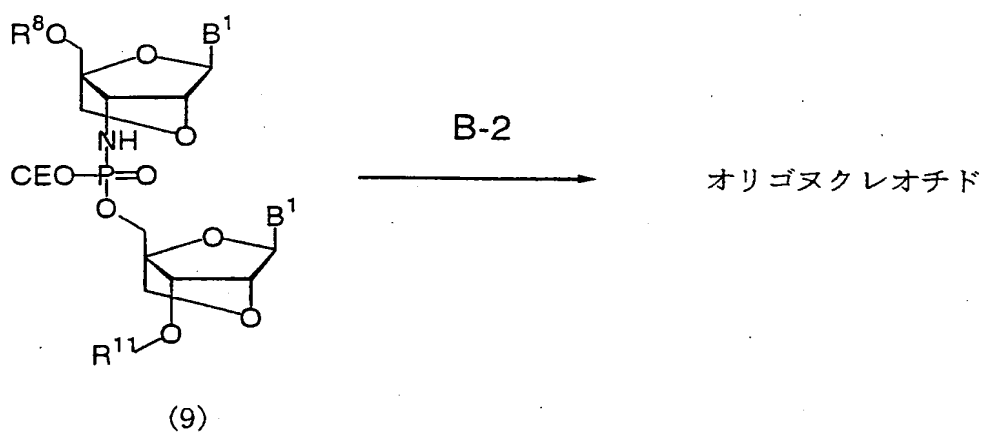
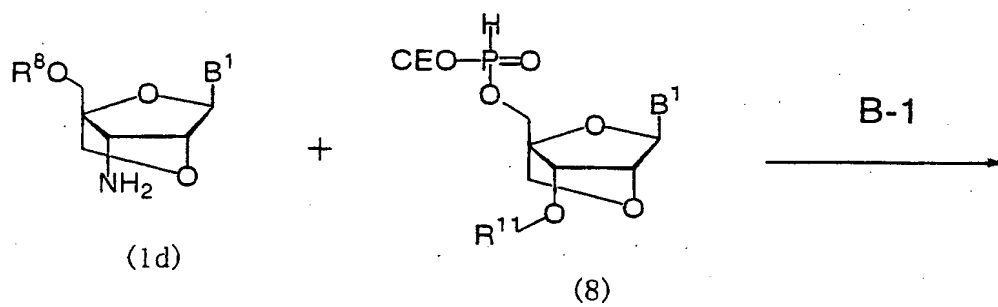
圧力は、特に限定はないが、通常1乃至10気圧で行なわれる。

反応温度及び反応時間は、出発物質、溶媒及び触媒の種類等により異なるが、通常、0℃乃至100℃（好適には、20℃乃至40℃）、5分乃至48時間（好適には、30分間乃至10時間）である。

反応終了後、本反応の目的化合物（1c）は、常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、ろ過により触媒を除去し、溶剤を留去することによって得られる。

ここで、所望により、前述の文献（Protective Groups in Organic Synthesis）に記載の方法に従って、アミノ基を保護することもできる。

本発明の化合物（1d）を用い、以下に述べるB法により、3'位の窒素原子と5'位の酸素原子をリン酸で結合させたN3'-P5'型の本発明のオリゴヌクレオチド類縁体を合成することができる。



上記工程表中、 B^1 及び R^8 は、前述と同意義であるが、式(1 d) B^1 と式(8)の B^1 とは、同一又は異なってもよい。

R^{11} は、こはく酸CPG (succinyl Controlled Pore Glass) 又はテンタゲル (Tentagel) のような、オリゴヌクレオチドの合成に通常用いられる樹脂を示す。

CEOは、2-シアノエトキシ基を示す。

以下B法の各工程について、詳細に説明する。

(B-1 工程)

本工程は、化合物(1 d)に化合物(8)を反応させて、化合物(9)を製造する、酸化的リン酸化反応 (oxidative phosphorylation coupling) であり、文献(1) (Nucleic Acids Research, Vol. 23, No. 14, pp. 2661-2668, 1995)と同様に行うことができる。

なお、化合物(1 d)は、A-8工程で得られる化合物(1 c)において、5'位の水酸基が保護されており、かつ、塩基Bにアミノ基が存在する場合にはアミノ基が保護されている化合物である。

また、化合物(8)は、A-8工程で得られる化合物(1 c)から文献(1)と同様にして合成できる化合物である。

(B-2 工程)

本工程は、B-1工程で得られる化合物(9)からオリゴヌクレオチドを合成する工程である。

まず、前述のA-7工程の方法を用いて化合物(9)の水酸基の保護基 R^8 を脱保護し、続いて、文献(1)と同様にしてリン酸化を行ない、さらに、上記B-1工程と同様にして化合物(1 d)を反応させ、このサイクルを繰り返すことによってオリゴヌクレオチドを合成することができる。

得られるオリゴヌクレオチド類縁体の鎖長は、ヌクレオチド単位として、通常、2乃至50個であり、好適には、10乃至30個である。

得られるオリゴヌクレオチド類縁体は、各種ヌクレアーゼに対して分解されにくく、生体への投与後、長時間生体内に存在することができる。また、例えば、mRNAと安定な二重鎖を形成して、病因となるタンパク質の生合成を阻害したり、ゲノム中の二重鎖DNAとの間で三重鎖を形成して、mRNAへの転写を阻害したり、細胞に感染したウイルスの増殖を抑えることもできる。

従って、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、抗腫瘍剤、抗ウイルス剤をはじめ、特定遺伝子の働きを阻害し、疾病を治療する医薬品として期待される。

本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、例えば、緩衝剤および／または安定剤等の慣用の助剤を配合して非経口投与製剤としたり、リポソーム製剤とすることができる。また、局所用の製剤としては、慣用の医薬用担体を配合して軟膏、クリーム、液剤または膏薬等に調剤できる。

その使用量は症状、年齢、投与方法等により異なるが、例えば、1回当り、下限として、0.001mg/kg 体重（好ましくは、0.01mg/kg 体重）、上限として、100mg/kg 体重（好ましくは、10mg/kg 体重）を1日当り1乃至数回症状に応じて使用することが望ましい。

以下に、実施例及び参考例を示し、本発明をさらに詳細に説明するが、本発明の範囲は、これらに限定されるものではない。

発明を実施するための最良の形態

(実施例1)

3'-アジド-5'-O-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-2'-O,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物番号2-48)

参考例5の化合物 (200 mg, 0.27 mmol) のメタノール溶液 (7 ml) に

0 °Cで炭酸カリウム (41 mg, 0.29 mmol) を加え、室温で 4.5 時間攪拌した後、さらに、炭酸カリウム (34 mg, 0.25 mmol) を加え 23 時間攪拌した。メタノールを留去後、残渣に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : n-ヘキサン = 2 : 1) により精製し、目的物を無色結晶 (142 mg, 0.27 mmol, 100%) として得た。

mp 93-95 °C.

IR ν_{\max} (KBr): 3169, 3047, 2956, 2888, 2859, 2117, 1696, 1275, 1109 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.12 (9H, s), 1.65 (3H, s), 3.78, 3.84 (2H, AB, $J = 8$ Hz), 3.90, 4.08 (2H, AB, $J = 12.5$ Hz), 4.02 (1H, s), 4.67 (1H, s), 5.67 (1H, s), 7.54 (1H, s), 7.39-7.48 (6H, m), 7.67-7.71 (4H, m), 8.46 (1H, br s).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 12.3, 19.5, 27.0, 58.7, 60.3, 71.4, 77.2, 78.6, 87.2, 90.1, 110.8, 128.0, 130.1, 130.2, 131.7, 132.3, 133.7, 135.1, 135.4, 149.6, 163.6.

(実施例 2)

3'-アジド-3'-デオキシ-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物番号2-14)

窒素気流下、実施例 1 の化合物 (140 mg, 0.26 mmol) の無水テトラヒドロフラン溶液 (5 ml) に、テトラブチルアンモニウムフルオリド (1.0 M in THF, 290 μl , 0.29 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : n-ヘキサン = 25 : 1) により精製し、目的物を白色粉末 (65.7 mg, 0.22 mmol, 85%) として得た。

mp 94-96 °C.

IR ν_{\max} (KBr): 3163, 3046, 2118, 1692, 1468, 1273, 1062 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 1.89 (3H, s), 3.76, 3.86 (2H, AB, $J = 8$ Hz), 3.85, 3.95 (2H, AB, $J = 13$ Hz), 4.03 (1H, s), 4.58 (1H, s), 5.58 (1H, s), 7.70 (1H, s).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD) δ : 12.8, 57.3, 61.2, 72.4, 79.8, 88.3, 91.0, 110.8, 136.3, 151.5, 166.1.

(実施例 3)

3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-O,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物番号2-4)

水素気流下、10% パラジウム炭素 (28 mg) の無水テトラヒドロフラン溶液 (5ml) に、実施例 2 の化合物 (64 mg, 0.22 mmol) のエタノール溶液 (3 ml) を加え、室温で 0.5 時間攪拌した。反応溶液を濾過後、溶媒留去して、目的物を白色粉末 (59 mg, 0.22 mmol, 100%) として得た。
mp 243-246 °C.

IR ν_{max} (KBr): 3459, 3365, 1699, 1447, 1273, 1054 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.83 (3H, s), 3.62 (1H, s), 3.92, 4.14 (2H, AB, $J = 8$ Hz), 4.24 (2H, s), 4.54 (1H, s), 5.97 (1H, s), 7.90 (1H, s)

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 12.8, 54.2, 57.2, 71.6, 81.4, 91.1, 109.5, 150.8, 164.3.

(実施例 4)

3'-アジド-3'-デオキシ-5'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-O,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物番号 2-36)

窒素気流下、実施例 2 の化合物 (300mg, 1.02 mmol) のピリジン溶液 (6 ml) にジメトキシトリチルクロリド (415 mg, 1.22 mmol) 及びジメチルアミノピリジン (12.5 mg, 0.10 mmol) を加え、室温で 20.5 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を

減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン:酢酸エチル=2:1→1:1) により精製し、淡黄色泡状物質として標記化合物 (462 mg, 0.78 mmol, 76%) を得た。

mp 125-128°C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.66 (3H, s), 3.32, 3.65 (2H, ABq, *J*=11 Hz), 3.78 (2H, s), 3.80 (6H, s), 4.13 (1H, s), 4.63 (1H, s), 5.67 (1H, s), 6.86 (4H, dd, *J*=2 Hz, 9 Hz), 7.23-7.45 (9H, m), 7.73 (1H, s), 8.04 (1H, brs).

(実施例 5)

3'-アミノ-3'-デオキシ-5'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-O,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物番号 2-60)

窒素気流下、実施例 4 の化合物 (110 mg, 0.18 mmol) のピリジン溶液 (2.5 ml) にトリフェニルホスフィン (94.0 ml, 0.36 mmol) を加え、室温で 3.5 時間攪拌した。引き続き、28%アンモニア水溶液 (5.5 ml) を加え、室温で 24 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:エタノール=20:1) により精製し、淡黄色泡状物質として標記化合物 (103 mg, 0.18 mmol, 97%) を得た。

mp 131-134°C. ¹H-NMR (Pyridine-d₅) δ: 1.89 (3H, s), 3.71 (6H, s), 3.77 (1H, s), 3.84 (2H, s), 3.99, 4.10 (2H, ABq, *J* = 8 Hz), 4.69 (1H, s), 6.04 (1H, s), 7.03-7.87 (13H, m), 8.58 (1H, s).

(実施例 6)

3'-アミノ-3'-デオキシ-5'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-O,4'-C-メチレン-5-メチルウリジニル-(3'→5')-3'-O-(tert-ブチルジメチルシリル)チミジン 2-シアノエチル エステル

窒素気流下、参考例 6 の化合物 (14.5 mg, 0.28 μmol) のアセトニトリル溶液 (0.3 ml) に実施例 5 の化合物 (10.0 mg, 18 μmol) の四塩化炭素 (0.3 ml)、トリエチルアミン (0.05 ml, 0.36 mmol)、アセトニトリル

溶液 (0.2 ml) を加え、室温で 14.5 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン: 酢酸エチル=1:1→0:1) により精製し、白色粉末として標記化合物 (13.0 mg, 12.5 μ mol, 71%) を得た。

mp 101-105 °C. ^{31}P -NMR (CDCl_3) δ : 7.68, 8.24. Mass(FAB): m/z 1043 ($\text{M}^+\text{+H}$).

(実施例 7)

3'-アミノ-3'-デオキシ-5'-*O*-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-*O*,4'-*C*-メチレン-5-メチルウリジニル-(3'→5')-3'-*O*-(*tert*-ブチルジメチルシリル)チミジン メチル エステル

窒素気流下、参考例 7 の化合物 (22.1 mg, 51 μ mol) のアセトニトリル溶液 (0.3 ml) に実施例 5 の化合物 (10.0 mg, 18 μ mol) の四塩化炭素 (0.3 ml)、トリエチルアミン (0.05 ml, 0.36 mmol)、アセトニトリル溶液 (0.2 ml) を加え、室温で 18 時間攪拌した。反応溶液に水加えた後、酢酸エチルにて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン:メタノール=20:1, 30:1) により精製し、白色粉末として標記化合物 (6.9 mg, 6.87 μ mol, 39%) を得た。

mp 118-122 °C. ^{31}P -NMR (CDCl_3) δ : 11.20, 11.30. Mass(FAB): m/z 1026 ($\text{M}^+\text{+Na}$).

(実施例 8)

3'-アミノ-3'-デオキシ-5'-*O*-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-*O*,4'-*C*-メチレン-5-メチルウリジニル-(3'→5')-チミジン メチル エステル

窒素気流下、実施例 7 の化合物 (13.9 mg, 14 μ mol) のテトラヒドロフラン溶液 (1 ml) にテトラブチルアンモニウムフロリドのテトラヒドロフラン溶液 (1.0 M, 15 μ l, 15 μ mol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。

溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：エタノール=5:1）により精製し、無色結晶として標記化合物（9.7 mg, 10.9 μ mol, 78%）を得た。

mp 157-160 °C. ^{31}P -NMR (CD_3OD) δ : 11.15, 11.23. Mass(FAB): m/z 912 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

（実施例 9）

3'-アミノ-3'-デオキシ-5'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-O,4'-C-メチレン-5-メチルウリジニル-(3'→5')-2'-[シアノエトキシ(ジイソプロピルアミノ)ホスフィノ]チミジン メチル エステル

窒素気流下、実施例 8 の化合物（10.0 mg, 11 μ mol）、とジイソプロピルアンモニウムテトラゾリド（15.5 mg, 77 μ mol）のアセトニトリル溶液（0.6 ml）にテトラヒドロフラン（0.2 ml）を加え、2-シアノエチルジイソプロピルクロロホスホロアミダイト（39.8 mg, 132 μ mol）を加えて、室温で 25 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：トリエチルアミン=99:1→酢酸エチル：エタノール：トリエチルアミン=100:10:1）により精製した後、ジクロロメタン、*n*-ヘキサンにより再沈殿を行い、白色粉末として標記化合物（3.8 mg, 3.5 μ mol, 31%）を得た。

mp 113-116°C.

^{31}P -NMR (CD_3OD) δ : 8.67, 8.77, 9.07, 9.28, 148.53, 148.93, 148.99, 149.03.

（実施例 10）オリゴヌクレオチド類縁体の合成

核酸合成機（Pharmacia 社製 Gene Assembler Plus）を用い、0.2 μ mol スケールで行った。各合成サイクルにおける溶媒、試薬、ホスホロアミダイトの濃度は天然型オリゴヌクレオチド合成の場合と同じであり、溶媒、試薬、天然型ヌクレオシドのホスホロアミダイトは全て Pharmacia 社製のものを用いた。Universal Q CPG（0.2 μ mol、Glen Research 製）の DMT

r 基をトリクロロ酢酸によって脱保護し、その生成した水酸基に実施例 9 の化合物及び天然ヌクレオチド合成用のアミダイトを用いて縮合反応を繰り返し行い、それぞれの配列の修飾オリゴヌクレオチド類縁体を合成した。合成サイクルは以下の通りである。

合成サイクル

- 1) detritylation トリクロロ酢酸/ジクロロメタン ; 60sec
- 2) coupling ホスホロアミダイト (25eq)、テトラゾール/アセトニトリル ; 2 min or 30 min
- 3) capping 1-メチルイミダゾール/アセトニトリル、無水酢酸/2, 4, 6-コリジン/アセトニトリル ; 36sec
- 4) oxidation ヨウ素/水/ピリジン/アセトニトリル ; 6sec

上記において、サイクル 2) で実施例 10 の化合物を用いて反応を行う場合は、30 分間反応を行い、その他のホスホロアミダイトを用いる場合は 2 分間反応を行った。

目的配列を有するオリゴヌクレオチド合成し、合成サイクルの 1) まで行い 5' 一位のジメトキシトリチル基を脱保護した後は、常法に従い、濃アンモニア水処理によってオリゴマーを支持体から切り出すとともに、リン原子上の保護基シアノエチル基をはずし、さらに核酸塩基上の保護基をはずした。

逆相 HPLC で精製を行い、目的のオリゴヌクレオチドを得た。

本合成法に従い、以下の配列：

5' - ttttttttttnt - 3' (配列表の配列番号 1)

で示される配列を有し、塩基番号 11 の n が 3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-0, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジンであるオリゴヌクレオチド類縁体 (以下「オリゴヌクレオチド (1)」とする。) を得た。

(収量 8.5 nmol (4.3% yield))

得られた修飾オリゴヌクレオチド類縁体の精製は、逆相 HPLC (HPLC : GILSON 社 ; Model 302、カラム : CHEMCO CHEMCOBOND 5-ODS-H (7.8×300mm) ; 0.1M 酢酸トリエチルアミン水溶液 (TEAA), pH7 ; 10→12.5%CH₃CN / 40min,

linear gradient ; 50°C ; 2.5ml/min ; 254nm) にて行い、25.4 分に溶出する分画を集めた。

(実施例 11) オリゴヌクレオチド類縁体の合成

5'-0-ジメトキシトリチル-N-4-ベンゾイル-5-メチル-2'-デオキシシチジン-3'-0-(2-シアノエチル) N, N-ジイソプロピルホスホロアミダイト (ファルマシア製) を用い、実施例 11 と同様に、以下の配列:

5'-tttttmtntmtmt-3' (配列表の配列番号 2) で示される配列を有し、m が 5-メチル 2'-デオキシシチジンで、n が 3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジンであるオリゴヌクレオチド類縁体 (以下「オリゴヌクレオチド (2)」とする。) を得た。

(収量 7.1 nmol (3.5% yield))

得られた修飾オリゴヌクレオチド類縁体の精製は、逆相 HPLC (HPLC : GILSON 社; Model 302、カラム: CHEMCO CHEMCORBOND 5-ODS-H (7.8×300mm) ; 0.1M 酢酸トリエチルアミン水溶液 (TEAA), pH7 ; 10→12%CH₃CN / 40min, linear gradient ; 50°C ; 2.5ml/min ; 254nm) にて行い、22.5 分に溶出する分画を集めた。

(参考例 1)

3-アジド-3-デオキシ-4-ヒドロキシメチル-1,2-0-イソプロピリデン- α -D-リボフラノース

文献 (Surzhykov S.A., Krayevsky A.A, Nucleosides Nucleotides, 13, 2283-2305 (1994)) に従い調製した3-アジド-4-ベンゾイルオキシメチル-5-0-ベンゾイル-3-デオキシ-1,2-0-イソプロピリデン- α -D-リボフラノース (4.13 g, 9.15 mmol) のメタノール溶液 (85 ml) に 0 °C で炭酸カリウム (380 mg, 2.75 mmol) 、水 (15 ml) を加え、同温で 4.5 時間攪拌した。0 °C 下、10%塩酸で中和し、メタノールを留去した。残渣に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒留去し、得られた白色固体を、冷n-ヘキサンで

洗浄して、目的物を白色粉末 (1.93 g, 7.87 mmol, 86%) として得た。

mp 113-115 °C (トルエン)。

IR ν_{\max} (KBr): 3460, 3417, 2989, 2951, 2907, 2111 cm^{-1} 。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.62 (3H, s), 1.35 (3H, s) 2.65 (2H, br s), 3.81, 3.65 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 3.59, 4.00 (2H, AB, $J = 12.5$ Hz), 4.28 (1H, d, $J = 5.5$ Hz), 4.82 (1H, dd, $J = 4$ Hz, 5.5 Hz), 5.85 (1H, d, $J = 4$ Hz)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 25.7, 26.2, 61.9, 62.1, 63.2, 79.9, 87.3, 104.4, 113.6。

(参考例 2)

3-アジド-5-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3-デオキシ-4-ヒドロキシメチル-1,2-0-イソプロピリデン- α -D-リボフラノース

窒素気流下、参考例 1 の化合物 (2.56 g, 10.5 mmol) の無水塩化メチレン溶液 (73 ml) に、0 °C で、トリエチルアミン (3.5g, 4.82 ml, 34.6 mmol)、塩化t-ブチルジフェニルシラン (9.75g, 9.22 ml, 35.46 mmol) を加え、室温で 24 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : n-ヘキサン = 1 : 6) により精製し、目的物を白色粉末 (3.13 g, 6.47 mmol, 62%) として得た。

mp 99.5-100.5 °C (n-ヘキサン)。

IR ν_{\max} (KBr): 3504, 2936, 2852, 2111 cm^{-1} 。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.07 (9H, s), 1.36 (3H, s), 1.62 (3H, s), 3.62, 3.92 (2H, AB, $J = 12$ Hz), 4.38 (1H, d, $J = 6$ Hz), 4.84 (1H, dd, $J = 4$ Hz, 5.5 Hz), 3.82, 3.70 (2H, AB, $J = 11$ Hz), 4.84 (1H, dd, $J = 4$ Hz, 5.5 Hz), 5.86 (1H, d, $J = 4$ Hz), 7.36-7.44 (6H, m), 7.64-7.67 (4H, m)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 19.2, 26.1, 26.3, 26.8, 62.2, 62.3, 65.2, 80.4,

88.0, 104.5, 113.7, 127.7, 127.8, 129.8, 129.9, 132.7, 132.8, 135.5.

(参考例 3)

3-アジド-5-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3-デオキシ-4-(p-トルエンスルホニルオキシメチル)-1,2-0-イソプロピリデン- α -D-リボフラノース

窒素気流下、0 °C で、参考例 2 の化合物 (100 mg, 0.21 mmol) の無水塩化メチレン溶液 (2 ml) に、トリエチルアミン (137 mg, 180 μ l, 1.29 mmol)、塩化p-トルエンスルホニル (63.3 mg, 0.33 mmol)、4-ジメチルアミノピリジン (4 mg, 0.03 mmol) を加え、室温で 14 時間撹拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : n-ヘキサン = 1 : 6) により精製し、目的物を白色粉末 (130 mg, 0.20 mmol, 98%) として得た。

mp 122-124 °C (酢酸エチル-n-ヘキサン)。

IR ν_{\max} (KBr): 3069, 2935, 2114, 1366, 1183, 1109 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.03 (9H, s), 1.27 (3H, s), 1.31 (3H, s), 2.41 (3H, s), 3.60, 3.72 (2H, AB, J = 10.5 Hz), 4.33, 4.40 (2H, AB, J = 10 Hz), 4.55 (1H, d, J = 5.5 Hz), 5.00 (1H, dd, J = 3.7 Hz, 5.5 Hz), 5.82 (1H, d, J = 3.7 Hz), 7.23 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.36-7.45 (6H, m), 7.61-7.63 (4H, m), 7.72 (2H, d, J = 8.5 Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 19.1, 21.5, 25.9, 26.0, 26.7, 63.1, 64.7, 68.9, 80.1, 85.6, 104.4, 113.8, 127.8, 128.0, 129.6, 129.9, 132.4, 132.5, 135.4, 144.6.

(参考例 4)

3-アジド-5-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3-デオキシ-4-(p-トルエンスルホニルオキシメチル)-1,2-0-アセチル-D-リボフラノース

窒素気流下、参考例 3 の化合物 (230 mg, 0.36 mmol) の酢酸溶液 (3.5 ml) に、無水酢酸 (406 mg, 375 μ l, 3.98 mmol)、濃硫酸 (6.5 mg, 3.5 μ l, 0.066 mmol) を加え、室温で 5 時間攪拌した。反応溶液を氷水に加え、30 分間攪拌し、飽和食塩水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : n-ヘキサン = 4 : 1) により精製し、 α : β = 約 3 : 7 の混合物である目的物を無色油状物質 (230 mg, 0.34 mmol, 94%) として得た。

IR ν_{\max} (KBr): 3048, 2935, 2864, 2117, 1756. cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) [β 体] δ : 1.06 (9H, s), 1.83 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.40 (3H, s), 3.54, 3.80 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.12, 4.26 (2H, AB, J = 10 Hz), 4.37 (1H, d, J = 5.5 Hz), 5.32 (1H, d, J = 5.5 Hz), 5.98 (1H, s), 7.29 (2H, d, J = 8 Hz), 7.37-7.46 (6H, m), 7.59-7.65 (4H, m), 7.76 (2H, d, J = 8 Hz).

[α 体] δ : 1.05 (9H, s), 2.02 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.51, 3.68 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.12, 4.21 (2H, AB, J = 10.5 Hz), 4.40 (1H, d, J = 7 Hz), 5.32 (1H, m), 6.31 (1H, d, J = 4.5 Hz), 7.25 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.37-7.46 (6H, m), 7.59-7.65 (4H, m), 7.70 (2H, d, J = 8.5 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 19.0, 19.1, 20.0, 20.6, 20.9, 21.1, 21.5, 26.6, 61.0, 63.2, 65.1, 68.4, 68.8, 72.2, 75.5, 85.4, 86.5, 93.6, 96.0, 97.3, 127.8, 127.9, 128.0, 129.6, 129.9, 130.0, 132.0, 132.3, 132.4, 135.4, 144.7, 168.5, 169.2, 169.3, 169.4.

(参考例 5)

2'-0-アセチル-3'-アジド-5'-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-4'-(p-トルエンシルホニルオキシメチル)-5-メチルウリジン

窒素気流下、0 $^{\circ}\text{C}$ で参考例 4 の化合物 (300 mg, 0.44 mmol) の無水 1, 2-ジクロロエタン溶液 (6 ml) に、0,0'-ビス (トリメチルシリル) チ

ミン (240 mg, 0.93 mmol)、四塩化スズ (253 mg, 114 μ l, 0.97 mmol) を加え、室温で 43 時間攪拌した。氷冷下、ジクロロメタンで希釈後、反応溶液に飽和重曹水を加え、ジクロロメタンで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : n-ヘキサン = 1 : 2-1 : 0) により精製し、目的物を白色粉末 (300 mg, 0.4 mmol, 91%) として得た

mp 158.5-159.5 $^{\circ}$ C (酢酸エチル-n-ヘキサン).

IR ν max (KBr): 3185, 3067, 2956, 2116, 1752, 1695, 1369, 1100 cm^{-1} .

^1H -NMR (CDCl_3) δ : 1.11 (9H, s), 1.59 (3H, s), 2.15 (3H, s), 2.41 (3H, s), 3.80, 3.84 (2H, AB, J = 11.5 Hz), 4.04, 4.10 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.47 (1H, d, J = 6 Hz), 5.53 (1H, t, J = 6.5 Hz), 5.94 (1H, d, J = 7 Hz), 7.18 (1H, s), 7.28 (2H, d, J = 7.5 Hz), 7.37-7.47 (6H, m), 7.61-7.65 (4H, m), 7.71 (2H, d, J = 7.5 Hz), 9.68 (1H, br s).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ : 11.8, 19.2, 20.9, 21.5, 26.9, 62.3, 65.9, 68.3, 74.2, 84.8, 86.1, 118.9, 127.9, 128.0, 129.7, 130.1, 131.5, 132.2, 135.2, 135.3, 135.5, 145.0, 150.4, 163.6, 169.9.

(参考例 6)

3'-O-(tert-ブチルジメチルシリル)チミジン 5'-(2-シアノエチル)ホスホネート

窒素気流下、3'-O-(tert-ブチルジメチルシリル)チミジン (K. M. Fries, C. Joswing and R. F. Borch, *J. Med. Chem.*, 38, 2672 (1995) に記載されている) (100 mg, 0.34 mmol) のアセトニトリル溶液 (4 ml) に 2-シアノエチルテトライソプロピルホスホロジアミダイト (132 mg, 0.44 mmol) を 5 分かけて加え、室温で 2.2 時間攪拌した。引き続き、テトラゾール (30.8 mg, 0.44 mmol) のアセトニトリル溶液 (0.88 ml) を加え、室温

で1時間撹拌した。反応溶液に水加えた後、ジクロロエタンにて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール=30:1, *n*-ヘキサン:酢酸エチル=1:5→0:1)により精製し、無色油状物質として標記化合物(98.4 mg, 0.21 mmol, 70%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.10 (6H, s), 0.90 (9H, s), 1.96 (3H, s), 2.16-2.28 (2H, m), 2.77-2.82 (2H, m), 4.09-4.41 (6H, m), 6.28 (1H, dd, $J = 7 \text{ Hz}, 11 \text{ Hz}$), 6.98 (1H, d, $J = 720 \text{ Hz}$), 7.36 (1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$), 8.20 (1H, brs). $^{31}\text{P-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.70, 8.94.

(参考例7)

3'-*O*-(*tert*-ブチルジメチルシリル)チミジン 5'-メチルホスホネート

窒素気流下、3'-*O*-(*tert*-ブチルジメチルシリル)チミジン(100 mg, 0.28 mmol)のジクロロメタン溶液(2 ml)にクロロジイソプロピルアミノメトキシホスフィン(69.2 mg, 0.35 mmol)を5分かけて加え、室温で1時間撹拌した。引き続き、テトラゾール(56.0 mg, 0.80 mmol)のアセトニトリル溶液(2.0 ml)を加え、室温で40分撹拌した。反応溶液に水加えた後、ジクロロエタンにて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-ヘキサン:酢酸エチル=1:1→0:1, *n*-ヘキサン:酢酸エチル=1:4)により精製し、無色油状物質として標記化合物(109 mg, 0.25 mmol, 91%)を得た。

$^{31}\text{P-NMR}$ (CDCl_3) δ : 9.13, 10.07.

(試験例1)

(三本鎖形成能測定のための T_m 測定)

140 mM KCl 及び 10 mM MgCl_2 を含む 7 mM リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0) (または、その MgCl_2 非添加である溶液)に溶解した3本鎖を形成するオ

リボヌクレオチド (2) と天然型 2 本鎖 DNA オリゴヌクレオチドを同モル量 (各オリゴヌクレオチドの終濃度は 1.5 マイクロ M) 加えたサンプル溶液を、沸騰水中に浴し、12 時間をかけてゆっくり室温まで冷却し、さらに 4℃ 下で 1 時間放置した。分光光度計 (Beckman 社製 Du 650) のセル室内で、サンプル溶液を 5℃ から 85℃ まで少しずつ昇温させ (0.5℃/min)、260 nm における紫外線吸収を測定した。

天然型 2 本鎖 DNA オリゴヌクレオチドは、

配列：

5' - gctaaaaagaaagagagatcg - 3' (配列表の配列番号 3)

及びその相補鎖で

配列：

5' - cgatctctctttcttttagc - 3' (配列表の配列番号 4)

からなるものを用いた。

また、3 本鎖を形成する天然型オリゴヌクレオチドとして、

配列：

5' - tttttmtttmtmt - 3' (配列表の配列番号 5)

であって、m が 5-メチル-2'-デオキシシチジンであるもの (以下、「オリゴヌクレオチド (3)」とする) を用いた。

表 3 にオリゴヌクレオチド (2) 及び (3) と 2 本鎖 DNA との T_m 測定結果を示す。

(表 3)

T _m (°C)		
オリゴヌクレオチド (2)		オリゴヌクレオチド (3)
実施例 1 1		
MgCl ₂ 添加	5 5	4 4
MgCl ₂ 非添加	4 4	3 2

上記より明らかなように、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、天然型オリゴヌクレオチドと比べて、3本鎖における T_m 値が高く、きわめてよい3本鎖形成能を示した。

(試験例 2)

(ヌクレアーゼ酵素耐性の測定)

各種オリゴヌクレオチド(10 μg)を含むバッファー溶液 320 μl (50mM Tris(pH8.0) and 10mM MgCl₂) に 3'-エキソヌクレアーゼ (phosphodiesterase from *Crotalus durissus* (Boehringer Mannheim)) 0.2 μg を加え、混合液を 37°C に保ち反応を行った。一定時間後に混合液の一部を取り、90°C で2分間加熱することにより、酵素を失活させ反応を停止させた。各時間における混合液中のオリゴヌクレオチドの残量を逆相高速液体カラムクロマトグラフィーで定量し、ヌクレアーゼ存在下でのオリゴヌクレオチド量の経時的变化を測定し、結果を図1に示した。

図面の簡単な説明

図は、ヌクレアーゼ存在下でのオリゴヌクレオチド量の経時的变化を示す。

縦軸は、0（分）における各オリゴヌクレオチド量に対する各オリゴヌクレオチドの残存率（％）を示す。

横軸は、反応開始からの経過時間（分）を示す。

試験に用いたオリゴヌクレオチド

1. 実施例 10 で得られたオリゴヌクレオチド（1）
2. 配列：

5' - ttttttttttnt - 3' （配列表の配列番号 1）

で示される配列を有し、n が 2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジンであるオリゴヌクレオチド（以下、「オリゴヌクレオチド(4)」とする。）

3. 配列：

5' - tttttttttttt - 3' （配列表の配列番号 6）

で示される配列を有する天然型オリゴヌクレオチド（以下、「オリゴヌクレオチド(5)」とする。）

本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は天然型と比して顕著なヌクレアーゼ耐性を示した。更に、既知の非天然型オリゴヌクレオチド類縁体と比しても顕著なヌクレアーゼ耐性を示した。

本発明のオリゴヌクレオチド類縁体のハイブリッド形成能及び抗 HIV 活性の測定は、以下の方法に従い、調べることができる。

（試験方法 1）

得られた種々のオリゴヌクレオチド類縁体をアンチセンス鎖とし、天然の DNA あるいは RNA からなるセンス鎖とをアニーリング処理したものの融解温度（ T_m 値）を測定することにより、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体の相補 DNA および RNA に対するハイブリッド形成能を調べる。

最終濃度をそれぞれ、NaCl 100 mM、リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) 10 mM、アンチセンス鎖 4 μ M、センス鎖 4 μ Mとしたサンプル溶液 (500 μ L) を沸騰水中に浴し、10時間をかけてゆっくり室温まで冷却する。分光光度計 (例えば、島津 UV-2100PC) のセル室内に結露防止のために窒素気流を通し、サンプル溶液を5℃まで徐々に冷却し、さらに、20分間5℃に保った後、測定を開始する。サンプル温度は90℃まで毎分0.2℃ずつ上昇させ、0.1℃間隔で260 nmにおける紫外線吸収を測定する。

なお、温度上昇とともにサンプル濃度が増加するのを防ぐため、セルは、蓋付きのものをを用い、サンプル溶液表面に鉱油を1滴添加して測定する。

(試験方法2) 抗HIV活性の測定

本発明の化合物の抗HIV活性の測定は、R. Pauwel等の方法 (J. Virological Method 20, p. 309-321 (1988)) に準じて行なう。すなわち、MT-4細胞を遠心分離 (1000 x g, 5分) し得られる細胞沈査を、血清を含まないRPMI-1640培地に懸濁した細胞浮遊液に、HIVを接種して、37℃で1時間培養した後、10%牛胎児血清添加RPMI-1640培地 (以下、血清培地という) に加えて洗浄、遠心分離 (1000 x g, 5分) する。このようにして得られるHIV感染細胞及びHIV非感染細胞をそれぞれ 4×10^5 /ml になるように血清培地に懸濁し、組織培養用の96穴マルチウェルの各ウェルに100 μ l ずつ分注する。これらの各ウェルに100 μ l ずつ分注した後、5%炭酸ガスの存在下で、37℃で5日間静置培養する。同様に化合物無添加のHIV感染細胞及びHIV非感染細胞を培養する。培養終了後、MTT (3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド) を用いて生細胞を測定し、化合物添加における細胞傷害抑制活性 (抗HIV活性) を求める。なお、細胞液および接種ウイルス液にはマイコプラズマを含まないことを確認する。

化合物無添加のH I V非感染細胞の細胞傷害抑制活性を100%とし、化合物無添加のH I V感染細胞の細胞傷害抑制活性を0%として、H I V感染細胞に対して50%の細胞傷害抑制活性を示す化合物濃度 (EC_{50}) を求める。

産業上の利用の可能性

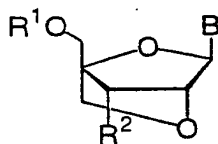
本発明の新規なビスクロヌクレオシド類縁体は、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定なオリゴヌクレオチド類縁体を製造するための中間体として有用である。

又、本発明の新規なオリゴヌクレオチド類縁体は、生体内で安定であり、アンチセンス又はアンチジーン薬として有用である。

さらに、本発明の新規なビスクロヌクレオシド類縁体は、抗エイズ活性を有し、A I D Sの予防又は治療薬として有用である。

請求の範囲

1. 一般式 (1)



(1)

[式中、

R^1 は、同一又は異なって、水素原子、水酸基の核酸合成の保護基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基又は式 $-P(R^{4a})R^{4b}$ (式中、 R^{4a} 及び R^{4b} は、同一又は異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、炭素数 1 乃至 7 個のシアノアルコキシ基又は炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたアミノ基を示す) で表される基を示し、

R^2 は、アジド基、アミノ基又は式 $NH-R^3$ (R^3 は、同一又は異なって、アミノ基の核酸合成の保護基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基又は式 $-P(R^{4a})R^{4b}$ (式中、 R^{4a} 及び R^{4b} は、同一又は異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基、炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、炭素数 1 乃至 7 個のシアノアルコキシ基又は炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたアミノ基を示す) で表される基を示す) で表される基を示し、

Bは、下記 α 群から選択される任意の置換基を 1 以上有していてもよいプリン-9-イル又は 2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イ

ル基を示す。]

で表される化合物又はその薬理上許容される塩。

(α 群)

水酸基、

核酸合成の保護基で保護された水酸基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基、

メルカプト基、

核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、

アミノ基、

核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたアミノ基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基、及び、

ハロゲン原子。

2. 請求項 1 において、 R^1 が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、シリル基、1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された 1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基である、化合物。

3. 請求項 1 において、 R^1 が、水素原子、シリル基、1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された 1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基である、化合物。

4. 請求項 1 において、 R^1 が、水素原子、トリメチルシリル基、 t -ブチルジメチルシリル基、 t -ブチルジフェニルシリル基、ベンジル基、トリフェニルメチル基、4-メトキシベンジル基、4-メトキシフェニル

ジフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル基又は4, 4', 4"-トリメトキシトリフェニルメチル基である、化合物。

5. 請求項1において、 R^2 が、アジド基、アミノ基、又は、式 $NH-R^3$ 基（式中、 R^3 は、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基又は核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である）である、化合物。

6. 請求項1において、 R^2 が、アジド基、アミノ基、式 $NH-R^3$ 基（式中、 R^3 が、アセチル基、トリフルオロアセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、tert-ブチルジフェニルシリル基、式 $-P(OC_2H_4CN)(NCH(CH_3)_2)$ で表される基、式 $-P(OC_2H_5)(NCH(CH_3)_2)$ で表される基、ホスホニル基、又は、2-クロロフェニル若しくは4-クロロフェニルリン酸基である）である、化合物。

7. 請求項1において、 R^2 が、アジド基又はアミノ基である、化合物。

8. 請求項1において、Bが、6-アミノプリン-9-イル（すなわち、アデニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ

ー6ーフルオロプリンー9ーイル、2ーアミノー6ーブロモプリンー9ーイル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2ーアミノー6ーブロモプリンー9ーイル、2ーアミノー6ーヒドロキシプリンー9ーイル（すなわち、グアニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2ーアミノー6ーヒドロキシプリンー9ーイル、6ーアミノー2ーメトキシプリンー9ーイル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6ーアミノー2ーメトキシプリンー9ーイル、6ーアミノー2ークロロプリンー9ーイル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6ーアミノー2ークロロプリンー9ーイル、6ーアミノー2ーフルオロプリンー9ーイル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6ーアミノー2ーフルオロプリンー9ーイル、2, 6ージメトキシプリンー9ーイル、2, 6ージクロロプリンー9ーイル、6ーメルカプトプリンー9ーイル、メルカプト基が核酸合成の保護基で保護された6ーメルカプトプリンー9ーイル、2ーオキソー4ーアミノー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル（すなわち、シトシル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2ーオキソー4ーアミノー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、4ーアミノー2ーオキソー5ーフルオロー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4ーアミノー2ーオキソー5ーフルオロー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、4ーアミノー2ーオキソー5ークロロー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4ーアミノー2ーオキソー5ークロロー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、2ーオキソー4ーメトキシー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、2ーオキソー4ーメルカプトー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、メルカプト基が核酸合成の保護基で保護された2ーオキソー4ーメルカプトー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル、2, 4ージヒドロキシピリミジンー1ーイル（すなわち、ウラシル）、2, 4ージヒドロキシー5ーメチルピリミジンー1ーイル（すなわち、チミル）、4ーアミノー5ーメチルー2ーオキソー1, 2ージヒドロピリミジンー1ーイル又はアミノ基が核酸合成の保護基で保護された4ーアミノー5ーメチル

ル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基である、化合物。

9. 請求項1において、Bが、6-ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-ベンゾイルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、ウラシル又はチミニル基である、化合物。

10. 下記化合物群から選択される1の化合物：

3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、

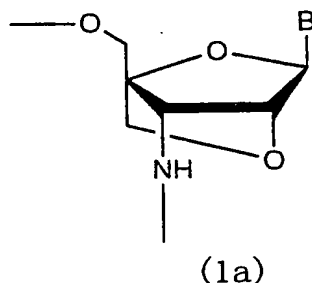
3'-アジド-3'-デオキシ-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、

3'-アジド-5'-O-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン

3'-アジド-3'-デオキシ-5'-O-(4, 4'-ジメトキシトリチル)-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、及び、

3'-アミノ-3'-デオキシ-5'-O-(4, 4'-ジメトキシトリチル)-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン。

11. 一般式(1a)



[式中、

Bは、下記 α 群から選択される置換基を有してもよいプリン-9-イル基又は2-オキソ-1,2-ジヒドロピリミジン-1-イル基を示す。]で表わされる構造を1又は2以上含有するオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩である。但し、上記構造を2以上含有する場合には、当該構造間でBは同一又は異なる。

(α 群)

水酸基、

核酸合成の保護基で保護された水酸基、

炭素数1乃至6個のアルコキシ基、

メルカプト基、

核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、

炭素数1乃至6個のアルキルチオ基、

アミノ基、

核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、

炭素数1乃至6個のアルキル基で置換されたアミノ基、

炭素数1乃至6個のアルキル基、及び、

ハロゲン原子。

12. 請求項11において、Bが、6-アミノプリン-9-イル基(す

なわち、アデニル基)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 6-アミノプリン-9-イル基、2, 6-ジアミノプリン-9-イル基、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル基、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル基、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル基、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル基、2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル基、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル基、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル基 (すなわち、グアニル基)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル基、アミノ基及び水酸基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル基、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル基、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル基、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル基、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル基、2, 6-ジクロロプリン-9-イル基、6-メルカプトプリン-9-イル基、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基 (すなわち、シトシニル基)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基 (すなわち、ウラシニル基)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基 (すなわち、チミニル基)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基 (すなわち、5-メチルシトシニル基) 又はアミノ基が核酸合成の保護

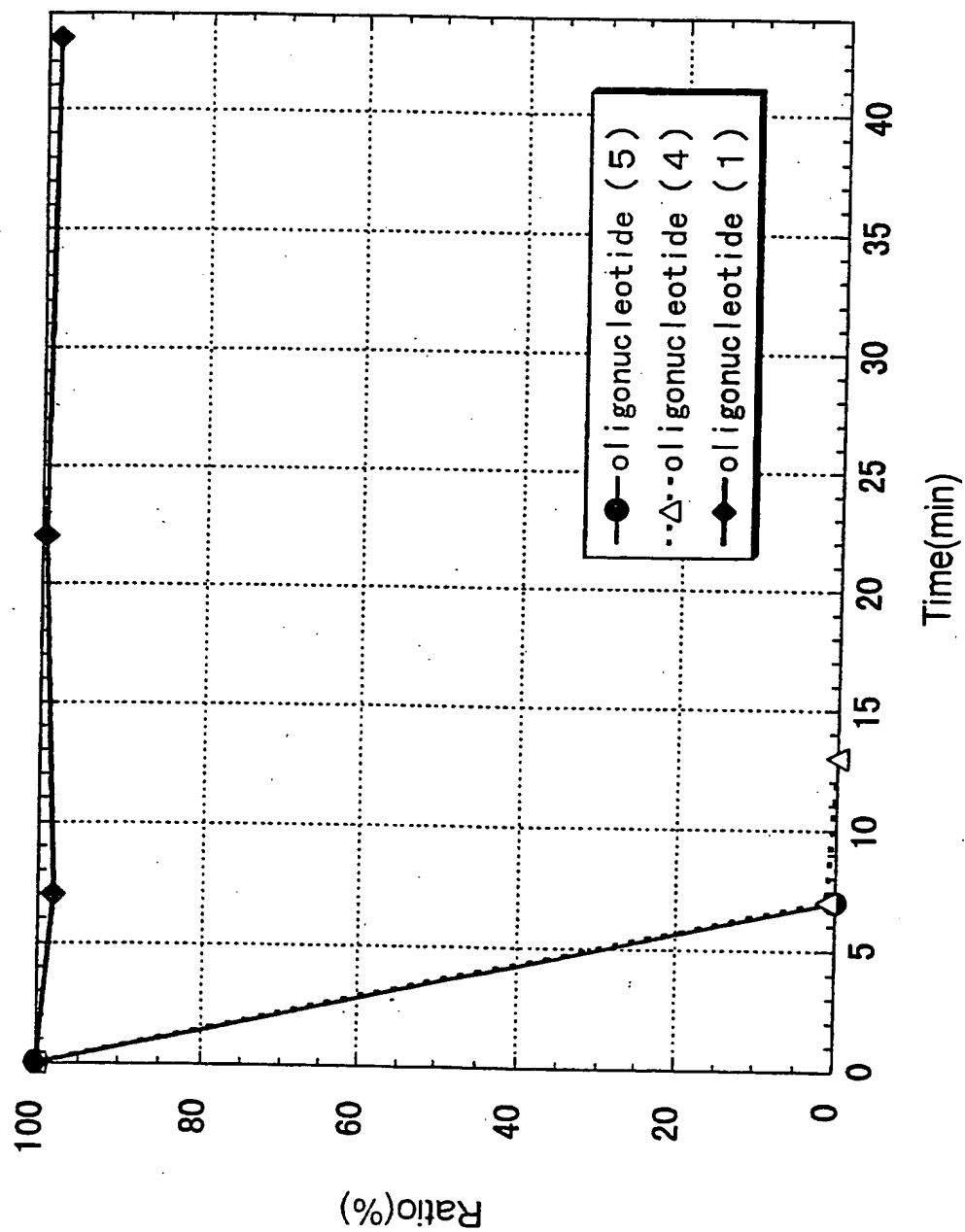
基で保護された 4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロ
ピリミジン-1-イル基である、オリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理
学上許容される塩。

13. 請求項 11 において、B が、6-ベンゾイルアミノプリン-9-
イル基、アデニル基、2-イソブチルアミノ-6-ヒドロキシプリン
-9-イル基、グアニル基、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1,
2-ジヒドロピリミジン-1-イル基、シトニル基、2-オキソ-5-
メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル
基、5-メチルシトニル基、ウラシニル基又はチミニル基である、オリ
ゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩。

THIS PAGE BLANK (US)

1 / 1

図面



THIS PAGE BLANK

配列表
SEQUENCE LISTING

<110> Sankyo Company, Limited

<120> Novel Bicyclo-Nucleoside Analogues

<130> FP-200042

<140>

<141>

<150> JP HEI11-207170

<151> 1999-07-22

<160> 6

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthesized
oligonucleotide for testing the nuclease
resistance

THIS PAGE BLANK (6-11)

<220>

<221> modified_base

<222> (11)

<223> modified uridine

<400> 1

tttttttttt nt

12

<210> 2

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthesized
oligonucleotide for testing the formability of a
triple strand

<220>

<221> modified_base

<222> (6)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

<220>

<221> modified_base

<222> (8)

<223> 3'-amino-3'-deoxy-2'-O,
4'-C-methylene-5-methyluridine

<220>

<221> modified_base

<222> (10)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

<220>

<221> modified_base

<222> (12)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

<220>

<221> modified_base

<222> (14)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

<400> 2

tttttntntn tntnt

15

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthesized
oligonucleotide for testing the formability of a
triple strand

<400> 3

THIS PAGE BLANK (USP)

gctaaaaaga aagagagatc g

21

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthesized
oligonucleotide for testing the formability of a
triple strand

<400> 4

cgatctctct ttcttttttag c

21

<210> 5

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthesized
oligonucleotide for testing the formability of a
triple strand

<220>

<221> modified_base

<222> (6)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

THIS PAGE BLANK (US-10)

<220>

<221> modified_base

<222> (10)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

<220>

<221> modified_base

<222> (12)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

<220>

<221> modified_base

<222> (14)

<223> 5-methyl 2'-deoxycytidine

<400> 5

tttttntttt ntnt

15

<210> 6

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthesized
oligonucleotide for testing the nuclease
resistance

THIS PAGE BLANK (USP)

<400> 6

tttttttttt tt

THIS PAGE BLANK (COPY)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/04902

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07H19/167, C07H19/067 // A61K31/7125, A61P31/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07H19/167, C07H19/067 // A61K31/7125, A61P31/18

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN) , MEDLINE (STN) , EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	OBIKA Satoshi et al 'Synthesis of a conformationally locked AZT analog, 3'-azido-3'-deoxy-2'-O, 4'-C-methylene-5-methyluridine.' Tetrahedron Lett., Aug. 1999, Vol.40, No.35, pages 6465 to 6468 & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), Columbus, OH, USA), DN.131:299638	1-13
A	WO, 98/39352, A1 (IMANISHI TAKESHI), 11 September, 1998 (11.09.98) & JP, 10-304889, A & EP, 1013661, A1	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not

"E" document of particular relevance
earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
29 September, 2000 (29.09.00)

Date of mailing of the international search report
10 October, 2000 (10.10.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H19/167, C07H19/067 // A61K31/7125, A61P31/18

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H19/167, C07H19/067 // A61K31/7125, A61P31/18

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	OBIKA Satoshi et al 'Synthesis of a conformationally locked AZT analog, 3'-azido-3'-deoxy-2'-O,4'-C-methylene-5-methyluridine.' Tetrahedron Lett., Aug. 1999, Vol. 40, No. 35, pages 6465 to 6468 & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), Columbus, OH, USA), DN. 131:299638	1-13
A	WO, 98/39352, A1 (IMANISHI TAKESHI) 11. 9月. 1998 (11. 09. 98) & JP, 10-304889, A & EP, 1013661, A1	1-13

☐ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

29. 09. 00

国際調査報告の発送日

17 10.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

森井 隆信

印

4 C

9 4 5 5

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

THIS PAGE BLANK (b)(1)